

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Electrochaea GmbH

Semmelweisstrasse 3

82152 Planegg-Steinkirchen

Germany

Mikrobielle Biofabriken: Methanogene als Plattform-Organismen zur Energiespeicherung, Gen-Expression und zur Produktion von Chemikalien höherer Wertschöpfung (MethanoPEP)

Birgit Lewandowski, Helen Hofmeister, Felix Popp

FKZ: 031B0851 Teilvorhaben E

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 031B0851 Teilvorhaben E gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Teil I: Kurzbericht

Die Nationale Forschungsstrategie BioEconomy 2030 adressiert die Nutzung nachhaltiger Quellen für die industrielle Produktion und Energieerzeugung als wichtiges Handlungsfeld. Sogenannten methanogenen Mikroorganismen, insbesondere Vertretern aus der Domäne der Archaeen kommt hierbei eine besondere Rolle zu, denn sie nutzen CO₂ als Kohlenstoffquelle für die Produktion des Energieträgers Methan. Gleichzeitig ist der Einsatz von Archaeen als Biokatalysator mit besonderen Herausforderungen verbunden, da diese mikrobielle Gruppe weit weniger erforscht ist als bakterielle Plattformorganismen. Die akademischen Partner des Vorhabens fokussierten sich somit vorwiegend auf die Erforschung und Entwicklung von Verfahren und Technologien, die künftig die Basis für eine breitere Nutzung von Methanogenen in industriellen Prozessen ermöglichen sollen.

Für Electrochaea als Industriepartner des Vorhabens stand und steht die Kommerzialisierung ihrer Technologie und damit verbunden verschiedene Aspekte der Optimierung der Power-to-Gas Energiespeicherung im Vordergrund. Dazu gehören zum einen die Optimierung der Nährstoffzuführung. Zum anderen dienten die molekularbiologisch basierte Forschungsvorhaben der Genexpressions-Analyse des Methanisierungsprozesses in versch. Phasen des Kultivierungsprozesses, mit dem finalen Ziel der Entwicklung einer Art von „molekularbiologischem Werkzeugkasten“ zur künftigen Prozessbegleitung und -optimierung. Auch sollte durch diese Projektabschnitte auf genomischer Ebene untersucht werden, ob die hohe Methanisierungsleistung des proprietären Stammes unter anderem auch durch stammspezifische Gene zu erklären ist. Aufgrund Ihrer Neuheit und des niedrigen technologischen Reifegrades waren für Electrochaea die Forschungsarbeiten des Vorhabens mit der engen Zusammenarbeit mit den akademischen Partnern und deren Fachexpertise in dieser Form umzusetzen: Für die Bearbeitung der entspr. Arbeitspakete profitierte Electrochaea über weite Strecken von Vorarbeiten und der fachlichen Expertise insbesondere von den kollaborierenden Konsortiumpartnern EKU und CAU.

So wurde das Genom des proprietären Biokatalysators einer Pangenomanalyse unterzogen, um Erklärungsansätze für seine nachgewiesene hohe Methanproduktivität zu erhalten. Im Zuge der Pangenomanalyse wurde eine Liste an Genen identifiziert, die laut vorhandener Datenbanken in dieser Konstellation nur bei Electrochaeas proprietärem Biokatalysator gefunden werden können und welche ursächlich für die besondere Leistungsfähigkeit des Stammes sein können.

Darüber hinaus wurde ein für den Einsatz im industriellen Umfeld geeignetes RNA-Isolationsprotokoll entwickelt, welches die methodische Basis für Transkriptomanalysen zur Bestimmung von Unterschieden in der Genexpression des Biokatalysators bei verschiedenen Kultivierungsbedingungen darstellte. Der Einsatz der Transkriptomanalyse zur Identifizierung unterschiedlicher Genexpressionen bei verschiedenen Kultivierungsbedingungen brachte technisch/methodische Herausforderungen, die keine sinnvolle Interpretation der Daten zuließen. Die Ursachenforschung wurde in enger Zusammenarbeit mit der CAU betrieben und Electrochaea profitierte von der Expertise in Bioinformatik am Lehrstuhl der CAU. Die zu Grunde liegende RNA-Qualität nach Extraktion wurde als ausreichend befunden. Weiterhin konnte ausgeschlossen werden, dass mehrere methanogene Spezies präsent sind. Allein diese Erkenntnisse sind für

Electrochaea bereits von großem Wert in Hinblick auf die Qualitätssicherung des proprietären Biokatalysators.

Schlussendlich wurde im Rahmen dieses Vorhabens auch an der Optimierung der Nährstoffsupplementierung gearbeitet und auch hier eine Neuentwicklung begonnen, nämlich der, die flüssigen Nährstoffsupplemente durch Feststoff-Formulierungen zu ersetzen. Die Entwicklung und Testung von granulierten Nährstoffformulierungen zeigten unter atmosphärischen Fermentationsbedingungen dieselben Wachstums- und Methanisierungsraten, wie die herkömmlichen und bereits etablierten flüssigen Nährstoffsupplemente.

Mit den ersten drei Punkten, der Pangenomanalyse, der Entwicklung eines RNA-Extraktionsprotokolls und der Transkriptomanalyse wurde weitgehend wissenschaftliches Neuland beschritten und die erlangten Fortschritte sind nur durch die enge Zusammenarbeit mit den hochrangigen Projektpartnern im Konsortium, insbesondere mit den Forschungsgruppen der CAU und der EKU möglich gewesen. Der vierte Forschungsschwerpunkt die Supplementierung der Fermentationsbrühe über granuliert und/oder feste Medien anstatt mit etablierten Flüssigrezepturen ist ebenfalls eine technologische Neuentwicklung, welche im Rahmen dieses Vorhabens gestartet wurde. Aus Kosten- und Logistikgründen wird dies für die zukünftige Verwertung in großtechnischen Anlagen essentielle Bedeutung erlangen. Diese Art der Supplementierung, ebenfalls neu für Gasfermentation mit methanogenen Archaeen bedarf erwartungsgemäß weiterer Entwicklungsarbeiten über das gegenständliche Vorhaben hinaus, bis ein großtechnischer Einsatz erfolgen kann.

Da es pandemiebedingt zu Verzögerungen bei den durchzuführenden Arbeiten gekommen war, wurde in enger Abstimmung mit den Konsortialpartnern im August 2022 eine kostenneutrale Verlängerung des Projektes um ein Jahr bis zum 31.12.2023 beantragt und vom Projektträger bewilligt.

Teil II: Eingehende Darstellung

1. Im Rahmen des Vorhabens durchgeführte Arbeiten

Im Rahmen des Vorhabens wurde von Electrochaea das Arbeitspaket 2 „Optimierung der Power-to-Gas Energiespeicherung“ federführend bearbeitet. Dieses Arbeitspaket unterteilte sich in verschiedene, zum Teil ineinandergreifende Themen, die in den jeweiligen Unterarbeitspaketen AP 2.1 bis AP 2.4 definiert sind. Die nachfolgende Beschreibung der Arbeitspakete gibt einen Überblick über die durchgeführten Arbeiten und deren Ergebnisse. Mittels der Meilensteine werden diese auf Zielerreichung überprüft. Der Nutzen und die Verwertbarkeit der Ergebnisse, die bereits begonnenen Arbeiten hierzu im Anschluss an das Vorhaben sowie die konkreten Planungen sind unter „Ausblick und Verwertung“ (nach den erläuterten Ergebnissen der Arbeitspakete) kompakt beschrieben.

Weitere Details der in den Arbeitspaketen durchgeführten Arbeiten, deren Relevanz und deren Verwertung sind dem Kapitel 1 in Teil III, dem nicht veröffentlichten Teil des Sachberichtes zum Verwendungsnachweis, zu entnehmen.

Arbeitspaket 2.1: Analyse des Pangenoms des Biokatalysators ECH0100 und verwandten Stämmen

Die Pangenomanalyse wurde durchgeführt, um den proprietären Biokatalysator zu charakterisieren, indem Gene identifiziert werden sollten, die im Vergleich zu anderen Vertretern derselben Gattung entweder ausschließlich im proprietären Biokatalysator-Stamm von Electrochaea vorhanden sind, oder ggf. spezifisch fehlen. Es wurde nicht nur einzelne Gene, sondern eine Liste an Genen gefunden, die in dieser speziellen Konstellation nur bei dem proprietären Biokatalysator Stamm von Electrochaea gefunden werden können.

Meilenstein 2.1: „Die Pangenomanalyse ist abgeschlossen und die auf spezifischen Besonderheiten des Stammes beruhenden Kandidatengene für die Transkriptomanalysen sind erfasst“, wurde erreicht.

Ausblick und Verwertung: Die im Rahmen dieses Vorhabens durchgeführten Arbeiten sind die Basis für weiterführende Untersuchungen bei Electrochaea nach Abschluss des Vorhabens. Die Datenbank-Informationen bezüglich Archaeen sind stetig wachsend und daher bleibt abzuwarten, ob künftig einige der bisher noch nicht annotierbaren Gene später doch noch spezifisch zugeordnet werden können, einerseits um den Stamm zu charakterisieren und andererseits, um Aspekte seiner Leistungsfähigkeit bei der Methanisierung noch besser untermauern zu können.

Arbeitspaket 2.2: Etablierung eines optimierten RNA-Isolationsprotokolls und Kultivierungsexperimente im Labormaßstab

Um die reproduzierbare Isolierung von RNA aus Fermenterproben zu gewährleisten, wurde bei Electrochaea ein praktikables und kostengünstiges Verfahren zur Isolierung der Gesamt-RNA aus

ECH0100 Zellen auf Basis von kommerziellen Kits entwickelt und Lagerungsstrategien für die etablierte RNA etabliert.

Meilenstein 2.2 wurde folgendermaßen definiert: „Das RNA-Isolationsprotokoll ist etabliert und an die AG Schmitz-Streit (CAU) übergeben worden. Die Zellen aus den Kultivierungsexperimenten unter Standardbedingungen sind geerntet und zur weiteren Bearbeitung zur AG Schmitz-Streit übergeben worden“, wurde erreicht. Dieser Meilenstein wurde erreicht.

Ausblick und Verwertung: Die SOP für die RNA-Isolierung und Lagerung wurde erstellt. Der zugehörige interne Bericht mit den Erkenntnissen aus den Arbeiten (beispielsweise Qualitätskriterien, Limitierungen, technische Alternativen) liegt ebenfalls vor und ist Basis für zukünftige Weiterentwicklungen.

Arbeitspaket 2.3.: Transkriptomanalyse des proprietären Biokatalysatorstammes

Es wurde Gesamt-RNA aus Proben von verschiedenen Reaktorexperimenten und während verschiedener Phasen der Wachstumskurve isoliert. Die RNA-Isolierung aus diesen Proben wurde mittels eines etablierten und optimierten Protokolls aus dem AP 2.2 durchgeführt. Nach Überprüfung von Quantität und Qualität wurden die Proben von der CAU an die Sequenzier-Plattform überstellt. Die Proben wurden dort im Unterauftrag der CAU quantitativ sequenziert (RNA-Seq) und die Ergebnisse wurden in Zusammenarbeit mit der CAU diskutiert. Es zeigte sich, dass einige Proben ein auffallendes Muster an nicht bis kaum detektierbaren mRNAs aufwiesen.

Aufgrund dieser unerwarteten und nicht auswertbaren Ergebnisse, wurde in enger Abstimmung zwischen Electrochaea und CAU eine umfangreiche Ursachensuche durchgeführt, bei der besonderes Augenmerk auf eventuelle methodisch bedingte Begründungen gelegt und die jeweiligen Expertisen der Projektpartner gebündelt wurden: Die CAU steuerte ihre Expertise, Wissen und vor allem Erfahrung in Bioinformatik bei, Electrochaea Ihre Erfahrung mit Gasfermentationen in Reaktoren und im Umgang mit der eigenen Biokatalysatorkultur.

So konnte von der CAU gezeigt werden, dass die zu Grunde liegende RNA-Qualität die Ursache für die Ergebnisse war. Weiterhin konnte die CAU aufgrund von detektierbaren „rRNA-Reads“ in den Sequenzierungen ausschließen, dass die Resultate durch Präsenz mehrerer methanogener Spezies in den Proben zu erklären ist.

Es war für die CAU nicht möglich, rückwirkend die übermittelten Ergebnisse mit der Sequenzier-Plattform zu evaluieren, da dieses Unternehmen seine Geschäftstätigkeit eingestellt hatte und mit 26.01.2023 liquidiert worden war. Auch war alles verfügbare Material, das von Electrochaea isoliert und von der CAU auf Ihre Qualität überprüft worden war, von der CAU an die Firma Vertis versendet worden, so dass keine Rückstellproben aus dieser Messkampagne übrig waren.

Die einzige technische Möglichkeit einer weiteren Verfahrensweise bestand darin, eine alternative Firma für die RNA-Seq zu identifizieren und die Messkampagne aus AP 2.3 im Rahmen des gegenständlichen Vorhabens zu wiederholen. Aus Kosten-, Ressourcen und Zeitgründen musste dieser Plan jedoch verworfen werden.

Im Vorfeld der Experimente war bereits eingeplant/einkalkuliert worden, dass die Transkriptom-Analyse diverse techn. und methodische Herausforderungen mit sich bringen könnte/würde. Nichtsdestotrotz war erwartet worden, dass zumindest für einzelne Bedingungen belastbare Ergebnisse erzielbar sind. Der Meilenstein 2.3 war daher so formuliert, dass potenzielle Engpässe bereits angesprochen wurden:

Meilenstein 2.3: „Die Transkriptom-Analyse für die unterschiedlichen Wachstumsphasen ist erfolgt und die potenziellen Engpässe wurden identifiziert“. Wörtlich genommen wurde im Rahmen des gegenständlichen Vorhabens der Meilenstein 2.3 erreicht, denn die „Transkriptom-Analyse für die unterschiedlichen Wachstumsphasen ist erfolgt“ und „Engpässe wurden identifiziert“.

Das übergeordnete Ziel, mit Hilfe von differentiellen Expressionsanalysen Transkripte zu detektieren, die unter verschiedenen Kulturphasen/-bedingungen unterschiedlich reguliert werden, um somit potentielle Kandidatengene zu identifizieren, welche die Grundlage für den Übergang von der Wachstumsphase zur Produktionsphase bilden, konnte während des Vorhabens nicht erreicht werden.

Die weiter oben diskutierten/erwähnten Ergebnisse über die ausreichende RNA-Qualität und den Ausschluss der Präsenz mehrerer methanogener Spezies in der Biokatalysatorkultur, haben im Hinblick auf die qualitätsgesicherte Produktion des proprietären Biokatalysators bereits großen Wert für *Electrochaea*.

Ausblick und Verwertung: Künftiges Ziel nach Abschluss des gegenständlichen Vorhabens für *Electrochaea* ist, extrahierte RNA neben den erbrachten Qualitätsanalysen noch weiter auf Sequenzierbarkeit zu testen und via Transkriptom-Analysen weiter auszuwerten.

Arbeitspaket 2.4. Optimierung der Nährstoffzufuhr und Übertragung in industrielle Druckreaktoren

Das Verfahren der biologischen Methanisierung basiert auf einem biologischen Katalysator in einem Bioreaktor mit wässriger Lösung, die anorganische Salze und Spurenelemente für den Metabolismus des Biokatalysators enthält. Die Produkte des Biomethanisierungsprozesses, ausgehend von Wasserstoff (H_2) und Kohlendioxid (CO_2), sind Methan (CH_4) und Wasser (H_2O). Da für jedes Molekül CH_4 zwei Moleküle H_2O entstehen, nimmt die Flüssigkeitsmenge während der Methanisierung zu. Gleichzeitig muss der Füllstand der Biokatalysatorflüssigkeit im Reaktor konstant gehalten werden. Dementsprechend wird das überschüssige Volumen des bei der Methanisierung entstehenden Prozesswassers, das aus Biokatalysator und Nährsalzen besteht, kontinuierlich abgeleitet. Dadurch kommt es sowohl zu einer Verdünnung, als auch zu einer Ausschleusung der Nährsalze. Durch Supplementierung der Salze und Spurenelemente, die der Biokatalysator benötigt, wird dem entgegengewirkt, mit dem Ziel die Konzentration der Nährsalze im Medium möglichst konstant zu halten. Um während der Supplementierung so wenig wie möglich zusätzliches Wasser zuzuführen, werden die Nährlösungen als flüssiges Konzentrat zugegeben. Bis dato wurde bei *Electrochaea* ausschließlich mit solchen Flüssigmedien als Nährstoffsupplementierung gearbeitet, denn diese Vorgehensweise ist für den Laborbereich etabliert, unter dem Gesichtspunkt der Risikominimierung am einfachsten in den technischen Maßstab skalierbar und von *Electrochaea* im Rahmen des Betriebes der Pilotanlagen bereits erfolgreich validiert worden. Als Weiterentwicklung zu den

etablierten Flüssigmedien und vor dem Hintergrund der notwendigen Kosten- und Logistiko Optimierung bei großtechnischen, industriellen Anlagen aber auch zur Minimierung der Kohlenstoffemissionen des Gesamtprozesses, bietet die Zuführung der Nährstoffe als Feststoffe für kommerzielle Anlagen viele Vorteile gegenüber der Flüssigmedien.

Im Rahmen dieses Arbeitspaketes wurden daher granuliert Medien als mögliche, optimierte Darreichungsform von Nährstoffen formuliert und in Reaktorexperimenten auf Ihre Eignung getestet. Die Applikation der re-solubilierten Granulatmedien führte zu keinerlei Einbußen, weder im Wachstum der Archaeen, noch in den Methanisierungsraten. Daher konnten in diesem Projektabschnitt die Laborexperimente zur Analyse der Granulatmedien abgeschlossen werden und es konnte eine Bewertung der getesteten Medien im Hinblick auf Wachstums- und Methanisierungsraten vorgenommen werden. Auf die für diesen Arbeitsabschnitt ursprünglich angedachten Genexpressionsanalysen wurde wegen der im AP 2.3 beschriebenen methodischen Probleme bei der Sequenzierungsanalyse verzichtet.

Meilenstein 2.4 wurde somit teilweise erreicht: Die Laborexperimente zur Variation der Nährstoffverfügbarkeit und Methanbildungsrate wurden erfolgreich abgeschlossen. Eine Bewertung in Hinblick auf die Genexpression konnte wegen der in AP 2.3 beschriebenen Ergebnisse zur Transkriptom-Analyse nicht durchgeführt werden.

Gemäß Projektantrag sollten diese Laborergebnisse in industriellen Druckreaktoren überprüft werden, wofür zum Zeitpunkt der Antragsstellung die Pilotanlage von Electrochaea in Avedore, Dänemark, genutzt werden sollte. Aufgrund der pandemiebedingten Projektverzögerung stand die Pilotanlage in Avedore für diese Arbeiten dann nicht mehr zur Verfügung. Auch anderweitig konnte auf keine Druckreaktoren im industriellen Maßstab zugegriffen werden. Es wurde in Absprache mit der EKU beschlossen, auf die Verwendung von Serumflaschen zurückzugreifen, in welchen die Kultivierung bis 2 bar durchgeführt werden kann. Das Hauptargument für die Serumflaschen war, dass mit vertretbarem Aufwand technische sowie biologische Repliken angesetzt werden können, die zeitgleich gefahren werden können und daher eine statistische Auswertung der Ergebnisse ermöglichen.

Die Kultivierung vor Ort in Tübingen erfolgte in technischen Triplikaten. Es wurden die granulierten Testmedien, das flüssige Referenzmedium und als technische Positivkontrolle das Standardmedium für Serumflaschen der Arbeitsgruppe Molitor der EKU getestet. Das Ergebnis war, dass der Electrochaea eigene Biokatalysator in den Serumflaschen weder im Referenzmedium, welches seit Jahren bei Electrochaea in Labor- und im Pilotmaßstab seinen Einsatz findet, noch in den Re-hydraten der granulierten Medien anwuchs, und daher auch keine Methanbildung zu messen war. Im Gegensatz dazu zeigte dieselbe Kultur in der technischen Positivkontrolle im Standardmedium der AG Molitor an der EKU deutliches Wachstum und eine deutliche Bildung von Methan. Adaptierungen in Hinblick auf Pufferkapazität und höheres Anfangszellzahl als mögliche (naheliegende und leicht zu behebbende) Ursachen für das Nichtanwachsen bzw. das Ausbleiben der Methanproduktion, brachten keine Änderung. Fundamentale Veränderungen an der Medienrezeptur für die Verwendbarkeit in Serumflaschen hätten den angestrebten Vergleich bzw. Test der granulierten Medien verhindert bzw. unmöglich gemacht, da diese auf dem für die „Continuous Flow Technik“ adaptierten Medium beruhen. Das wesentliche Ergebnis dieser Experimente ist, dass die Skalierung

vom Großmaßstab zurück zum Labormaßstab in Serumflaschen ähnliche Herausforderungen darstellen kann, wie umgekehrt vom Labormaßstab in den industriellen Großmaßstab.

Meilenstein 2.5 („Die Kultivierung in industriellen Druckreaktoren unter Verwendung optimierter Fütterungsraten und die Datenauswertung ist abgeschlossen“) konnte nicht wie geplant erreicht werden:

Ausblick und Verwertung: Für *Electrochaea* steht immer die industrielle Anwendung, die Risikominimierung beim „Scale-Up“ und auch Optimierungen in Hinblick auf Kosten, Praktikabilität, Prozessstabilität und Prozesssicherheit im Vordergrund. Daher ist eine Veränderung der Rezeptur mit dem Ziel der Anpassung an Serumflaschen kein weiterzuverfolgendes Ziel.

Die Entwicklung der Nährstoffsupplementierung wurde Hinblick auf Verwertung im großtechnischen Maßstab weitergetrieben. Aufbauend auf allen Ergebnissen aus den verschiedenen Versuchen und Testreihen des gegenständlichen MethanoPEP-Vorhabens wurden Rezepturadaptierungen vorgenommen und bereits begonnen, deren Wirkung auf den Biokatalysator im Hinblick auf Wachstum und Methanisierungseffizienz im kontinuierlich betriebenen Laborfermenter zu untersuchen. Die ersten Ergebnisse sind vielversprechend. Darüber hinaus wurde Kontakt mit international tätigen Lohnherstellern aufgenommen und erste gemeinsame Entwicklungsarbeiten gestartet. Diese Arbeiten sollen auch Testchargen an Feststoffmedien beinhalten, die analog zur Vorgehensweise im MethanoPEP-Vorhaben auf Ihre Tauglichkeit im Durchflussreaktor getestet werden.

Die erste großtechnische Umsetzung und Testung neuer Nährstoffsupplemente sowie neuer Fütterungsstrategien soll in der ersten kommerziellen Anlage von *Electrochaea* erfolgen, die in Roslev in Dänemark errichtet wird und die im Jahre 2026 mit Gasnetzeinspeisung in Betrieb gehen soll.

Arbeitspaket 2.5. Bewertung von rekombinanten M. thermotrophicus-Stämmen

Es war geplant, dass der Acetyl-CoA-Überproduktionsstamm von *M. thermotrophicus* aus dem WP5, MS 5.6 und evtl. ein Isopren/-oid-produzierender *M. thermotrophicus*-Stamm aus dem WP6, MS 6.8 unter den in WP2 etablierten, optimierten Bedingungen in Bioreaktoren im Labormaßstab (2 l) getestet werden, um Unterschiede zum Wildtyp im Wachstums- und Produktionsverhalten untersuchen zu können. Dieser Projektabschnitt konnte bis zum Abschluss der Förderperiode in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe um Dr. Bastian Molitor (EKU) nicht bearbeitet werden, da keiner der genannten Stämme zur Verfügung stand (siehe auch Bericht des Projektpartners).

Meilenstein 2.6: „Rekombinante *M. thermotrophicus*-Stämme wurden unter Produktionsbedingungen im Labormaßstab getestet“ wurde nicht erreicht.

Ausblick und Verwertung: Rekombinante Archaeen als Produktionsplattform für alternative Produkte zu Methan einzusetzen ist nach wie vor eine interessante Möglichkeit für eine wirtschaftliche Verwertung für *Electrochaea*, die allerdings als langfristige Entwicklungstätigkeit bis zur Marktreife zu sehen ist.

2. Übersicht über die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die Summe der bewilligten Mittel beträgt € 649.617,- bei einer Förderquote von 60%.

Mit € 323.468,70 für wissenschaftliche Mitarbeitende machen die Ausgaben für das Personal den größten Anteil der Kosten aus. Die hier gegenüber der ursprünglichen Planung gegebenen Mehrausgaben von € 52.193,70 sind durch die zusätzlich notwendig gewordenen Arbeiten der AP 2.3 und 2.4 bedingt.

Durch diese Mehrarbeit war es möglich, dass in beiden Arbeitspaketen die gesetzten Meilensteine zumindest teilweise erreicht werden konnten. Für die zukünftige Verwertung hat diese Mehrarbeit im Rahmen des Vorhabens für Electrochaea essentiellen Wert, da die dadurch erzielten Ergebnisse die solide Basis für die aktuell im Anschluss an das Vorhaben durchgeführten Weiterentwicklungen darstellen.

Dienstreisekosten sind, bedingt durch die COVID-19-Pandemie, nur in einer reduzierten Höhe von € 5.492,- angefallen. Das Budget für die Materialkosten konnte um knapp € 6.000,- unterschritten werden, denn durch sparsames und umsichtiges Wirtschaften wurde weniger Material benötigt als ursprünglich kalkuliert. Das Budget, das für vorhabensspezifische Afa vorgesehen war, wurde ebenfalls signifikant, nämlich um knapp € 22.000,- unterschritten, da einzelne Geräte nicht angeschafft werden mussten, weil unerwarteter Weise auf bestehendes Equipment zurückgegriffen werden konnte.

Die insgesamt angefallenen Mehrkosten von € 57.867,66 werden von Electrochaea getragen.

Weitere Details sind dem Teil III, Kapitel 2. „Angaben über die Einhaltung der Ausgaben und Zeitplanung“ zu entnehmen.

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Alle vorgesehenen Arbeiten wurden gemäß dem ursprünglichen Projektplan bzw. den mit dem Projektträger vereinbarten Anpassungen (kostenneutrale Verlängerung auf Grund der COVID 19-Pandemie, Antrag zur Freigabe gesperrter Mittel) ausgeführt. Diese waren für die Erreichung der Ergebnisse des Teilprojekts und des Gesamtkonsortiums notwendig und angemessen. Eine weitere externe Förderung war nicht gegeben.

4. Die während der Durchführung des Vorhabens dem Zuwendungsempfänger bekannt gewordenen Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Während der Durchführung des Vorhabens ist dem Zuwendungsempfänger kein relevanter Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen bekannt geworden. Maßgebliche laufende Veröffentlichungen wurden in die Projektbearbeitung eingespeist und berücksichtigt.

5. Die erfolgten oder geplanten Veröffentlichungen des Ergebnisses nach Nr. 5 der NKBF/NABF

G. Contreras, J. Thomsen, M. Pfitzer, **D. Hafenbradl**, **D. Kostner**, D. Holtmann, R.A. Schmitz, M. Rother, and B. Molitor (2022): New perspectives for biotechnological applications of methanogens; *Current research in Biotechnology*, 4 (2022), 468-474.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN geplant	2. Berichtsart (Schlussbericht oder Veröffentlichung) Veröffentlichung (Publikation)
3. Titel Mikrobielle Biofabriken: Methanogene als Plattform-Organismen zur Energiespeicherung, Gen-Expression und zur Produktion von Chemikalien höherer Wertschöpfung (MethanoPEP)	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Birgit Lewandowski	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.12.2023
	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation Sonstiges
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Electrochaeta GmbH Sammelweisstr. 3 82152 Planegg	9. Ber.-Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 031B0851E
	11. Seitenzahl 10
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) BMBF	13. Literaturangaben
	14. Tabellen
	15. Abbildungen
16. DOI (Digital Object Identifier)	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum) Forschungszentrum Jülich GmbH (FZJ). Projektträger Jülich (PTJ), 52425 Jülich	
18. Kurzfassung Electrochaeta war als Industriepartner nicht in allen Arbeitspaketen beteiligt. Die erzielten Ergebnisse im Einzelnen und die daraus gesammelten Erfahrungen sind dem Schlussbericht zu entnehmen.	
19. Schlagwörter MethanoPEP, Biomethanisierung, Power-to-Gas, Energiespeicher	
20. Verlag	21. Preis

Nicht änderbare Endfassung mit der Kennung 2333733-2

Document control sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Veröffentlichung (Publikation)		
3. title Microbial biofactories: Methanogens as platform organisms for energy storage, gene expression and production of higher value-added chemicals (MethanoPEP)			
4. author(s) (family name, first name(s)) Birgit Lewandowski		5. end of project 31.12.2023	
		6. publication date	
		7. form of publication Document Control Sheet	
8. performing organization(s) name, address Electrochaea GmbH Sommelweisstr. 3 82152 Planegg		9. originators report no.	
		10. reference no. 031B0851E	
		11. no. of pages 10	
12. sponsoring agency (name, address) BMBF		13. no. of references	
		14. no. of tables	
		15. no. of figures	
16. DOI (Digital Object Identifier)			
17. presented at (title, place, date) Forschungszentrum Jülich GmbH (FZJ), Projektträger Jülich (PTJ), 52425 Jülich, 17.06.2024			
18. abstract Electrochaea was not involved in all work packages as an industrial partner. The results achieved in detail and the experience gained can be found in the final report.			
19. keywords MethanoPEP, biomethanization, power-to-gas, energy storage			
20. publisher		21. price	

Nicht änderbare Endfassung mit der Kennung 2465276-2