**Экзаменационные вопросы по курсу**

**«Метаболическая инженерия»**

**МГУ – Биологический факультет – 2021**

1. Метаболическая инженерия – определение; фундаментальная направленность исследований и их практическая значимость. Этапы развития, методологическая основа и принципиальные различия.
2. К тридцатилетию МИ в 2021 г. – примеры выдающихся успехов (создание продуцентов АК, 1,3-пропандиол, 7-ADCA, 1,4-бутандиол, артеминизин, изо-бутанол).
3. Примеры экспериментов МИ, направленных на повышение эффективности традиционных производств. Актуальность и промышленные перспективы микробного синтеза антибиотиков, АК, и др. практически значимых соединений.
4. Использование МИ для рентабельной утилизации нового промышленного сырья (raw material). Возможные перспективы использования новых видов сырья для биотехнологической промышленности.
5. Что такое «bio-based chemicals», каковы перспективы производства с использованием МИ.
6. Аминокислоты – традиционный продукт биотехнологии и «target» для МИ. Успехи генетической селекции продуцентов аминокислот. Современные пути создания штаммов-продуцентов АК.
7. В чем принципиальное различие в раннем и современном использовании методов Мутагенеза и селекции. Понятия Обратной/Инвертированной (Inverse) генетики.
8. Современные методы мутагенеза. Необходимость развития и значимость HT (high-throughput)-based подходов для современной МИ.
9. Современные методы редактирования геномов микроорганизмов. От плазмидных модификаций до «рандомизации» целевых последовательностей в хромосоме на основе Recombineering с селекцией (устойчивость к антибиотикам) и контра-селекцией (SacB, I-SceI и др.).
10. Принципы использования CRISPR/Cas9-зависимой контра-селекции для прецизионного редактирования генома микроорганизмов. Перспективы использование для МИ бактерий.
11. В чем принципиальное различие в МИ-ных подходах, использованных для создания продуцентов 1,3-пропандиола и 1,4-бутандиола.
12. Какие факторы лежат в основе решения о создании (модернизации) штамма-продуцента нового или уже известного продукта методами МИ с целью его использования в новом (или уже действующем) промышленном производстве.
13. Какие важнейшие научно-методические и организационные подходы были разработаны и апробированы при создании продуцентов артемизининовой кислоты и затем артемизинина, и какова была благотворительная инициатива авторов препарата.
14. Краткий анализ основных этапов и методов изучения метаболизма. Синтез метаболитов предшественников. Генерация внутриклеточной энергии на примере *E. coli*, понятие и представление о метаболической цене основных предшественников и других метаболитов.
15. Современные методы реконструкции Метаболизма по сиквенированному Геному: теоретические возможности, необходимость экспериментального уточнения и проверки.
16. Современные методы исследования структуры и функции неизвестных генов и их белковых продуктов. Что можно сказать о неизвестных генах в геномах самых изученных объектов (например, *E. coli*).
17. Транскриптомика – роль в Х-омных исследованиях в системной биологии, суть метода и эволюция экспериментальных подходов. Примеры обнаружения генов «новых ферментов». Роль «Транскриптомики» в поиске новых генов.
18. Изучение метаболических ферментов. Преимущества использования методов «Протеомики» в современных исследованиях структуры и функции белков.
19. Метаболическая регуляция ферментов в природе - распространенность, роль, мишень. Почему в клетке большая доля ферментов в норме работает на достаточно малом уровне своей потенциальной активности.
20. Два принципиально различных направления исследований современной Флуксомики – FBA и MFA – условно, «теоретический» и «экспериментальный» подходы. Общие принципы.
21. Теоретические и экспериментальные подходы к определению значений потоков, характеризующих предложенную стехиометрическую моделью Размеры моделей в различных вариантах флуксомики. В каком случае необходим учет всех возможных перестановок атомов углерода в реакциях. Понятие изотопомера.
22. Эксперимент в 13С-MFA: ЯМР и GC-MS, LC-MS/MS. Возможности и перспективы использования для решения стационарных задач на основе анализа АК и метаболитов.
23. Основные принципы стационарного 13С-MFA. Стехиометрические модели метаболизма от «коровой» до «полно-геномной». Общая схема эксперимента по 13С-MFA.
24. В чем специфические особенности 13С-MFA в случае проведения параллельных экспериментов (PLE вместо SLE), различающихся меченностью исходного субстрата.
25. Анализ статистики решения задачи потоков. Принципы использования метода Монте-Карло для установления доверительных интервалов для значений потоков
26. Почему Флуксомику часто рассматривают как «Вершину» всех современных Х-омных технологий. Что является результатом расчета современных Fitting программ в 13С-MFA, что дает расчет дизайна эксперимента, доверительных интервалов для значений потоков?
27. Успешные примеры использования 13С-MFA в современной метаболической инженерии.
28. Системная биология – определение понятия и методы исследования. Примеры использования методов системной биологии в современной МИ (как минимум по одному примеру исследований по МИ, в которых основа стратегии или доказательность результатов опиралась на информацию, полученную одной из Х-омных технологий).
29. Какова принципиальная стратегия проведения экспериментов по МИ. Приведите примеры применения различных стратегий.
30. Что такое ортогональная экспрессия генов, «ключевые игроки» этой системы и в чем отличие ортогональной от альтернативной системы экспрессии.
31. Успешные примеры изменения регуляции генов в МИ методами синтетической биологии. Metabolic grafting, Retrosynthesis. Примеры разработки и использования статических и динамических стратегий процессов в МИ; достоинства динамических подходов, основанных на Metabolic Control Engineering.
32. Позитивные примеры организации искусственных «скаффолдов», использование природной и организация искусственной компартментализации для реализации туннелирования субстратов по targeted pathway в экспериментах по МИ