

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 21620070153823

UDC \_\_\_\_\_

廈門大學

博 士 学 位 论 文

**RIP3 及其下游底物和 RIP1 在细胞坏死中功  
能的研究**

**The Study on Functions of RIP3/Substrates and RIP1 in  
Necrosis**

汪 雪 坤

指导教师姓名: 韩家准 教授

专业名称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2010 年 07 月

论文答辩时间: 2010 年 09 月

学位授予日期: 2011 年 09 月

答辩委员会主席: 李博安

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2010 年 9 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( 韩家淮 )课题(组)的研究成果,获得( 韩家淮 )课题(组)经费或实验室的资助,在( 韩家淮 )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名): 汪雪坤

2010年 09月 20日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：汪雪坤

2010年 09月 20日

## 中文摘要

死亡受体诱导的细胞坏死是一类不依赖于 caspase 的生理相关的死亡方式，长久以来人们对于这种死亡方式的机制知之甚少。最近的三篇报道即为人们能够更好地理解细胞坏死信号通路建立了基础。这三篇报道揭示了 RIP3 和 RIP1 组成的坏死复合体在细胞坏死通路中扮演了至关重要的角色。但是，这一细胞坏死复合体诱导细胞坏死的具体机制却仍不清楚。

本文发现在 TNF- $\alpha$  诱导的细胞坏死通路中，RIP3 参与了两个顺序形成的蛋白复合体。首先形成的蛋白复合体由 RIP3 和 RIP1 组成，这一复合体对于随后形成的复合体是必需的。在这一复合体中，RIP3 增强了 RIP1 的 K48 聚泛素化修饰，RIP1 的泛素化修饰对于细胞坏死过程不是主要作用。RIP3 的赖氨酸残基 202 位也可以被 K63 聚泛素化修饰，这一泛素化修饰不参与细胞坏死通路。重要的是 RIP3 通过自身的 RHIM 结构域形成同源二聚体，这一同源二聚体的形成对于 RIP3 依赖的细胞坏死是必需的。随后形成的蛋白复合体由 RIP3 和下游底物组成，RIP3 与下游底物 GLUL 的结合也同样需要 RHIM 结构域，而 RIP3 与其他两个下游底物结合则依赖于 RIP3 的氨基端 1-292。

本论文对细胞坏死通路中的 RIP3 和 RIP1 以及 RIP3 及其下游底物之间的具体机制进行了研究，并为更好地理解这一信号通路提供了新的看法。

**关键词：**受体相互作用蛋白 1；受体相互作用蛋白 3；细胞坏死；顺序蛋白复合体；泛素化；同源二聚体

## Abstract

Death receptor induced necrosis is a physiologically relevant form of caspase independent cell death whose molecular regulation has been poorly understood for a long time. Findings recently reported make an important contribution to the understanding of necroptotic signaling by describing an essential role for RIP1/RIP3 necrosome in the decision between necroptosis and survival when apoptotic signaling is blocked, but it remains unclear how this necrosome induces necrosis.

The work presented here indicated that RIP3 is involved in two sequential signaling complexes induced by TNF- $\alpha$ . The initial complex consists of RIP1 and RIP3, this complex is critical for the next complex. In this complex, RIP3 enhances K48-linked polyubiquitination of RIP1, but ubiquitination of RIP1 is not essential for TNF- $\alpha$ -induced necrosis. RIP3 is K63-poly-ubiquitinated at K202, but K63-linked polyubiquitination of RIP3 is not required for TNF- $\alpha$ -induced necrosis. The interesting thing is RIP3 homodimerization depend on the RHIM domain, and the homodimerization of RIP3 is essential for RIP3 dependent necrosis. The other complex consists of RIP3 and substrates. In this complex, RHIM domain is also required for the interaction between RIP3 and GLUL, which is a known substrate of RIP3, whereas aa 1-292 of RIP3 is required for the interaction between RIP3 and PYGL or GLUD1, which are the other known substrates of RIP3.

In this thesis, we study on function of RIP3/substrates and RIP1 in necrosis, and provide new thoughts to understand the necroptotic signaling pathway.

**Keywords:** RIP1; RIP3; necrosis; sequential complex; ubiquitination; homodimerization

目 录

中文摘要.....	I
Abstract.....	II
<b>第一章 前言 .....</b>	<b>1</b>
1.1 RIP 蛋白激酶家族.....	1
1.1.1 RIP1.....	2
1.1.2 RIP2.....	5
1.1.3 RIP3.....	6
1.1.4 RIP4.....	8
1.1.5 RIP5.....	9
1.1.6 RIP6 和 RIP7.....	9
1.1.7 小结.....	10
1.2 细胞凋亡及细胞坏死与 RIP 家族的关系 .....	10
1.2.1 细胞凋亡 .....	10
1.2.2 细胞坏死 .....	12
1.2.3 RIP1、RIP3 在 TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡及细胞坏死通路中的作用 .....	13
1.2.3.1 RIP1 在 TNF- $\alpha$ 诱导的 NF- $\kappa$ B 信号通路中的作用.....	14
1.2.3.2 RIP1 在 TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡通路中的作用 .....	15
1.2.3.3 RIP1 和 RIP3 在 TNF- $\alpha$ 诱导的细胞坏死通路中的作用.....	16
1.2.4 小结.....	17
1.3 立题背景 .....	18
<b>第二章 材料和方法 .....</b>	<b>19</b>
2.1 实验相关药品和试剂.....	19
2.2 实验室主要仪器.....	20

<b>2.3 DNA 相关实验和方法</b> .....	<b>21</b>
<b>2.3.1 质粒载体</b> .....	<b>21</b>
2.3.1.1 普通真核表达载体 .....	21
2.3.1.1.1 pCMV5 载体 .....	21
2.3.1.1.2 pcDNA6.0 载体 .....	22
2.3.1.2 慢病毒真核表达载体 .....	22
2.3.1.2.1 pBOBI 载体 .....	22
2.3.1.2.2 pLV-EF1 $\alpha$ -MCS-IRES-Bsd 载体 .....	23
2.3.1.3 慢病毒 RNAi 载体 .....	24
2.3.1.4 原核表达载体 .....	26
<b>2.3.2 大肠杆菌感受态细胞的制备和转化</b> .....	<b>27</b>
2.3.2.1 感受态细胞的制备 .....	27
2.3.2.2 感受态细胞的转化 .....	28
<b>2.3.3 质粒 DNA 的提取</b> .....	<b>28</b>
2.3.3.1 质粒 DNA 的小量提取 (STET 煮沸法) .....	28
2.3.3.2 质粒 DNA 的中量提取 (碱裂解法) .....	29
2.3.3.3 质粒 DNA 的大量提取 (CsCl 密度梯度离心法) .....	30
<b>2.3.4 质粒 DNA 的工具酶处理</b> .....	<b>31</b>
2.3.4.1 DNA 的限制性内切酶消化 .....	31
2.3.4.2 双链 DNA 5'突出末端平滑化 .....	31
2.3.4.3 线性 DNA 5'末端磷酸化 .....	32
2.3.4.4 线性 DNA 5'末端磷酸基团的移除 .....	32
<b>2.3.5 DNA 的回收和纯化</b> .....	<b>32</b>
2.3.5.1 DNA 琼脂糖凝胶电泳 .....	32
2.3.5.2 从琼脂糖凝胶或是溶液中回收 DNA .....	33
<b>2.3.6 DNA 连接反应</b> .....	<b>33</b>
2.3.6.1 DNA 酶依赖的连接反应 .....	33
2.3.6.2 DNA 酶非依赖的连接反应 .....	34

<b>2.3.7 PCR 相关实验</b> .....	<b>34</b>
2.3.7.1 普通 PCR 反应 .....	34
2.3.7.2 点突变 PCR 反应 .....	35
2.3.7.2.1 点突变 PCR 反应的原理 .....	35
2.3.7.2.2 点突变 PCR 反应的引物设计 .....	36
2.3.7.3 基因型鉴定 PCR 反应 .....	37
<b>2.3.8 质粒 DNA 的构建</b> .....	<b>37</b>
2.3.8.1 RIP3 及 RIP3 各种突变和缺失体的构建 .....	37
2.3.8.2 RIP1 慢病毒表达载体的构建 .....	38
2.3.8.3 PYGL、GLUL 和 GLUD1 表达载体的构建 .....	39
<b>2.4 细胞相关实验和方法</b> .....	<b>39</b>
<b>2.4.1 RIP3<sup>-/-</sup>原代小鼠胚胎成纤维细胞制备及永生化处理</b> .....	<b>39</b>
<b>2.4.2 细胞培养与药物刺激</b> .....	<b>39</b>
2.4.2.1 细胞培养基及相关溶液配制 .....	39
2.4.2.2 细胞的培养和传代 .....	40
2.4.2.3 细胞药物刺激 .....	40
<b>2.4.3 细胞转染</b> .....	<b>41</b>
2.4.3.1 磷酸钙转染法 .....	41
2.4.3.2 脂质体 2000 转染法 .....	41
<b>2.4.4 慢病毒和逆转录病毒包装与感染</b> .....	<b>42</b>
2.4.4.1 慢病毒的包装与感染 .....	42
2.4.4.2 逆转录病毒的包装与感染 .....	43
<b>2.4.5 研究蛋白二聚化的方法</b> .....	<b>43</b>
2.4.5.1 HBD/4-OHT 系统 .....	43
2.4.5.2 FKBP/FRB/rapamycin 系统 .....	44
<b>2.4.6 利用流式细胞仪测定细胞存活率</b> .....	<b>45</b>
<b>2.4.7 细胞线粒体提取</b> .....	<b>46</b>
<b>2.5 蛋白质相关实验和方法</b> .....	<b>46</b>



2.5.1	免疫共沉淀 .....	46
2.5.2	免疫印迹 .....	47
2.5.3	CIAP 处理实验.....	48
2.5.4	泛素化检测实验 .....	48
2.5.5	相关溶液配制 .....	49
<b>第三章 结果与分析 .....</b>		<b>51</b>
3.1	<b>RIP3 分别与 RIP1 及 RIP3 下游底物形成不同的复合体.....</b>	<b>51</b>
3.1.1	<b>RIP3 与下游底物及 RIP1 结合.....</b>	<b>51</b>
3.1.1.1	RIP3 与 GLUD1 相互结合.....	51
3.1.1.2	RIP3 与 PYGL 相互结合 .....	52
3.1.1.3	RIP3 与 GLUL 相互结合 .....	53
3.1.2	<b>RIP1 不与 RIP3 下游底物相互结合.....</b>	<b>54</b>
3.1.2.1	RIP1 不与 GLUD1 相互结合.....	54
3.1.2.2	RIP1 不与 PYGL 相互结合 .....	55
3.1.2.3	RIP1 不与 GLUL 相互结合 .....	56
3.1.3	<b>TNF-<math>\alpha</math> 诱导的 RIP3 与下游底物的结合依赖于 RIP1.....</b>	<b>57</b>
3.1.3.1	TNF- $\alpha$ 诱导的 RIP3 与 GLUL 结合需要 RIP1 的存在.....	57
3.1.3.2	TNF- $\alpha$ 、CHX 和 zVAD 共同作用不能引起 RIP1 与 GLUL 相互结合.....	58
3.2	<b>RIP1 与 RIP3 形成复合体引起细胞坏死不依赖于 RIP1 泛素化修饰.....</b>	<b>59</b>
3.2.1	<b>TNF-<math>\alpha</math> 诱导的 RIP3 结合的 RIP1 被泛素化修饰.....</b>	<b>59</b>
3.2.1.1	TNF- $\alpha$ 诱导的 RIP3 结合的 RIP1 的具有多种修饰.....	59
3.2.1.2	在 TNF- $\alpha$ 作用下 RIP3 参与了 RIP1 的降解.....	60
3.2.1.3	TNF- $\alpha$ 引起的 RIP1 的降解为 K48 聚泛素化作用.....	62
3.2.2	<b>RIP3 参与调节了 TNF-<math>\alpha</math> 诱导的 RIP1 K48 聚泛素化.....</b>	<b>63</b>
3.2.3	<b>RIP1 的泛素化在细胞坏死过程中不起主要作用 .....</b>	<b>66</b>
3.3	<b>RIP1 与 RIP3 形成复合体引起细胞坏死不依赖于 RIP3 泛素化修饰.....</b>	<b>68</b>

3.3.1	RIP3 可以被泛素化修饰.....	68
3.3.2	RIP3 的 K63 聚泛素化修饰位于氨基端 .....	69
3.3.3	RIP3 的 K63 聚泛素化修饰位于赖氨酸残基 202 位置 .....	71
3.3.4	RIP3 的 K63 聚泛素化修饰并不参与细胞坏死 .....	73
3.4	RIP3 形成同源二聚体在细胞坏死通路中的作用 .....	74
3.4.1	RIP3 引起的细胞坏死依赖于 RHIM 结构域的存在 .....	75
3.4.2	RIP3 通过 RHIM 结构域形成同源二聚体引起细胞坏死 .....	77
3.4.2.1	RIP3 通过 RHIM 结构域形成同源二聚体 .....	77
3.4.2.2	RIP3 形成同源二聚体引起细胞坏死 .....	79
3.4.2.3	RIP1 和 RIP3 形成异源二聚体不能引起细胞坏死 .....	80
3.5	RIP3 通过不同的结构域与下游底物形成复合体 .....	83
3.5.1	RIP3 与通过不同的结构域与下游底物结合 .....	83
3.5.2	RIP3 通过氨基端与 GLUD1 及 PYGL 结合 .....	84
3.6	总结 .....	85
3.7	讨论 .....	87
附录 1	图表索引 .....	89
附录 2	缩略语及中英文对照 .....	92
参 考 文 献	.....	98
致谢	.....	106

## Table of Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract in english</b> .....	<b>II</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 RIP kinase family</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1.1 RIP1</b> .....	<b>2</b>
<b>1.1.2 RIP2</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1.3 RIP3</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.4 RIP4</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1.5 RIP5</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1.6 RIP6 and RIP7</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1.7 Summary</b> .....	<b>10</b>
<b>1.2 The relationship between RIP kinase family and apoptosis or necrosis</b> .	<b>10</b>
<b>1.2.1 Definition of apoptosis</b> .....	<b>10</b>
<b>1.2.2 Definition of necrosis</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2.3 The function of RIP1 and RIP3 in apoptosis and necrosis induced by TNF-<math>\alpha</math></b> .....	<b>13</b>
1.2.3.1 RIP1 mediates TNF-induced NF- $\kappa$ B activation .....	<b>14</b>
1.2.3.2 RIP1 mediates TNF- induced apoptosis .....	<b>15</b>
1.2.3.3 RIP1 and RIP3 mediates TNF-induced necrosis .....	<b>16</b>
<b>1.2.4 Summary</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3 Background of this thesis</b> .....	<b>18</b>
<b>Chapter 2 Materials and methods</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1 Drugs and reagents</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2 instruments</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3 Experiments and methods for DNA</b> .....	<b>21</b>

<b>2.3.1 Plasmid vector</b> .....	<b>21</b>
2.3.1.1 General eukaryotic expression vector .....	21
2.3.1.1.1 pCMV5 .....	21
2.3.1.1.2 pcDNA6.0 .....	22
2.3.1.2 Lentiviral vectors.....	22
2.3.1.2.1 pBOBI.....	22
2.3.1.2.2 pLV-EF1 $\alpha$ -MCS-IRES-Bsd.....	23
2.3.1.3 RNAi vector.....	24
2.3.1.4 Prokaryotic expression vector .....	26
<b>2.3.2 Preparation of competent cells and transformation</b> .....	<b>27</b>
2.3.2.1 preparation of competent cells.....	27
2.3.2.2 Transformation of DNA into competent cell.....	28
<b>2.3.3 Preparation of plasmid DNA</b> .....	<b>28</b>
2.3.3.1 Mini-prep of plasmid DNA by boiling.....	28
2.3.3.2 Midi-prep of plasmid DNA by alkaline lysis .....	29
2.3.3.3 Maxi-prep of plasmid DNA by CsCl gradient centrifugation .....	30
<b>2.3.4 Enzymatic treatments of plasmid DNA</b> .....	<b>31</b>
2.3.4.1 Digestion of plasmid DNA with restriction enzymes.....	31
2.3.4.2 Making blunt ends from 5' overhangs of double strand DNA .....	31
2.3.4.3 Addition of 5' phosphates to the linearized DNA .....	32
2.3.4.4 Removal of 5' phosphoryl group from the linearized DNA.....	32
<b>2.3.5 Recovery and purification of DNA</b> .....	<b>32</b>
2.3.5.1 Agarose gel electrophoresis.....	32
2.3.5.2 Recovery of DNA from agarose gel or solution.....	33
<b>2.3.6 Ligation</b> .....	<b>33</b>
2.3.6.1 DNA ligase dependent ligation.....	33
2.3.6.2 DNA ligase independent ligation.....	34
<b>2.3.7 PCR experiments</b> .....	<b>34</b>

2.3.7.1	General PCR.....	34
2.3.7.2	Site-directed mutagenesis.....	35
2.3.7.2.1	Principle.....	35
2.3.7.2.2	Primer design.....	36
2.3.7.3	Genotyping PCR.....	37
<b>2.3.8</b>	<b>Construction of plasmid vector.....</b>	<b>37</b>
2.3.8.1	Construction of RIP3, RIP3 mutants and deletions.....	37
2.3.8.2	Construction of lentiviral expression vector of RIP1.....	38
2.3.8.3	Construction of expression vectors of PYGL, GLUL and GLUD1 ...	38
<b>2.4</b>	<b>Experiments and methods for cell.....</b>	<b>39</b>
<b>2.4.1</b>	<b>RIP3-/- primary MEF preparation and immortalization.....</b>	<b>39</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Cell culture and stimulation.....</b>	<b>39</b>
2.4.2.1	Media and solutions for cell culture.....	39
2.4.2.2	Cell culture and passage.....	40
2.4.3.3	Drug stimulation.....	40
<b>2.4.3</b>	<b>Transfection.....</b>	<b>41</b>
2.4.3.1	Calcium phosphate transfection.....	41
2.4.3.2	Lipofectamine 2000 transfection.....	41
<b>2.4.4</b>	<b>Lentivirus and retrovirus packaging and infection.....</b>	<b>42</b>
2.4.4.1	Lentivirus packaging and infection.....	42
2.4.4.2	Retrotivirus packaging and infection.....	43
<b>2.4.5</b>	<b>Method of protein dimerization.....</b>	<b>43</b>
2.4.5.1	HBD/4-OHT system.....	43
2.4.5.2	FKBP/FRB/rapamycin system.....	44
<b>2.4.5</b>	<b>Determination of survival rate by Flow Cytometer.....</b>	<b>45</b>
<b>2.4.6</b>	<b>mitochondria extraction.....</b>	<b>46</b>
<b>2.5</b>	<b>Experiments and methods for protein.....</b>	<b>46</b>
<b>2.5.1</b>	<b>Co-immunoprecipitation.....</b>	<b>46</b>

2.5.2	Western blot.....	47
2.5.3	CIAP experiment.....	48
2.5.4	Ubiquitination assay .....	48
2.5.5	Preparation of solutions .....	49
<b>Chapter 3 Results and analysis.....</b>		<b>51</b>
3.1	<b>RIP3 is involved in two complexes in TNF induced necrosis cell death ...</b>	<b>51</b>
3.1.1	<b>RIP3 interacts with substrates and RIP1 .....</b>	<b>51</b>
3.1.1.1	RIP3 interacts with GLUD1 .....	51
3.1.1.2	RIP3 interacts with PYGL.....	52
3.1.1.3	RIP3 interacts with GLUL .....	53
3.1.2	<b>RIP1 doesn't interact with RIP3's substrates .....</b>	<b>54</b>
3.1.2.1	RIP1 does not interact with GLUD1 .....	54
3.1.2.2	RIP1 does not interact with PYGL.....	55
3.1.2.3	RIP1 does not interact with GLUL.....	56
3.1.3	<b>RIP1 is required for RIP3-substrates complex formation induced by TNF .....</b>	<b>57</b>
3.1.3.1	RIP1 is required for RIP3-GLUL complex formation induced by TNF .....	57
3.1.3.2	RIP1 does not interact with GLUL induced by TNF- $\alpha$ /CHX/zVAD ...	58
3.2	<b>Ubiquitination of RIP3 is not essential for necrotic cell death .....</b>	<b>59</b>
3.2.1	<b>RIP1 interacted with RIP3 is modified by ubiquitination induced by TNF-<math>\alpha</math>.....</b>	<b>59</b>
3.2.1.1	RIP1 of RIP1-RIP3 complex is modified induced by TNF- $\alpha$ .....	59
3.2.1.2	RIP3 is involved in RIP1 degradation induced by TNF- $\alpha$ .....	60
3.2.1.3	TNF- $\alpha$ induces K48 ubiquitination of RIP1 .....	62
3.2.2	<b>RIP3 mediates RIP3 K48-linked polyubiquitination induced by TNF-<math>\alpha</math> .....</b>	<b>63</b>
3.2.3	<b>Ubiquitination of RIP3 is not essential for necrotic cell death.....</b>	<b>66</b>

<b>3.3 K63-linked ubiquitination of RIP3 is not required for necrotic cell death</b>	<b>68</b>
.....	
<b>3.3.1 Ubiquitination of RIP3</b>	<b>68</b>
<b>3.3.2 The aa 1-292 of RIP3 is responsible for RIP3 K63-linked ubiquitination</b>	<b>69</b>
.....	
<b>3.3.3 RIP3 K202 is responsible for RIP3 K63-linked ubiquitination</b>	<b>71</b>
<b>3.3.4 K63-linked polyubiquitination of RIP3 is not involved in necrosis</b>	<b>73</b>
.....	
<b>3.4 The homodimerization of RIP3 is essential for cell necrosis</b>	<b>74</b>
.....	
<b>3.4.1 The RHIM domain is critical for RIP3 induced cell necrosis</b>	<b>75</b>
<b>3.4.2 RHIM dependent RIP3 homodimerization is critical for RIP3 dependent cell necrosis</b>	<b>77</b>
.....	
<b>3.4.2.1 RIP3 homodimerization depend on RHIM domain</b>	<b>77</b>
<b>3.4.2.2 RIP3 homodimerization induced cell necrosis</b>	<b>79</b>
<b>3.4.2.3 RIP1/RIP3 heterodimerization is not essential for cell death</b>	<b>80</b>
<b>3.5 RIP3 interacts with substrates by different domains</b>	<b>83</b>
.....	
<b>3.5.1 RIP3 interacts with substrates by different domains</b>	<b>83</b>
<b>3.5.2 The aa 1-292 of RIP3 is required for RIP3-GLUD1/PYGL interaction</b>	<b>84</b>
.....	
<b>3.5 Conclusions</b>	<b>85</b>
.....	
<b>3.6 Discussion</b>	<b>87</b>
.....	
<b>Appendix 1 Index of figures and tables</b>	<b>90</b>
<b>Appendix 2 Abbreviations</b>	<b>92</b>
<b>Reference</b>	<b>98</b>
<b>Acknowledgement</b>	<b>106</b>

## 第一章 前言

### 1.1 RIP 蛋白激酶家族

细胞因子刺激、病原体感染、DNA 损伤或者是炎症反应都可以激活细胞内的信号通路并导致细胞产生不同的反应，这其中包括了免疫细胞的激活和死亡。近十年来的研究显示受体结合蛋白（receptor-interacting protein, RIP）激酶家族的成员是细胞内和细胞外压力的一个极其重要的传感器。这些研究证明了该蛋白激酶家族不仅在炎症反应和其他免疫反应中起着重要的作用，而且在细胞死亡诱导的过程中也起着至关重要的作用<sup>[1-2]</sup>。

目前 RIP 蛋白激酶家族已报道的共有七个成员，这些成员在羧基端都具有一个同源的激酶结构域，除此之外它们各自具有其他不同的功能结构域（如图 1.1 所示）。

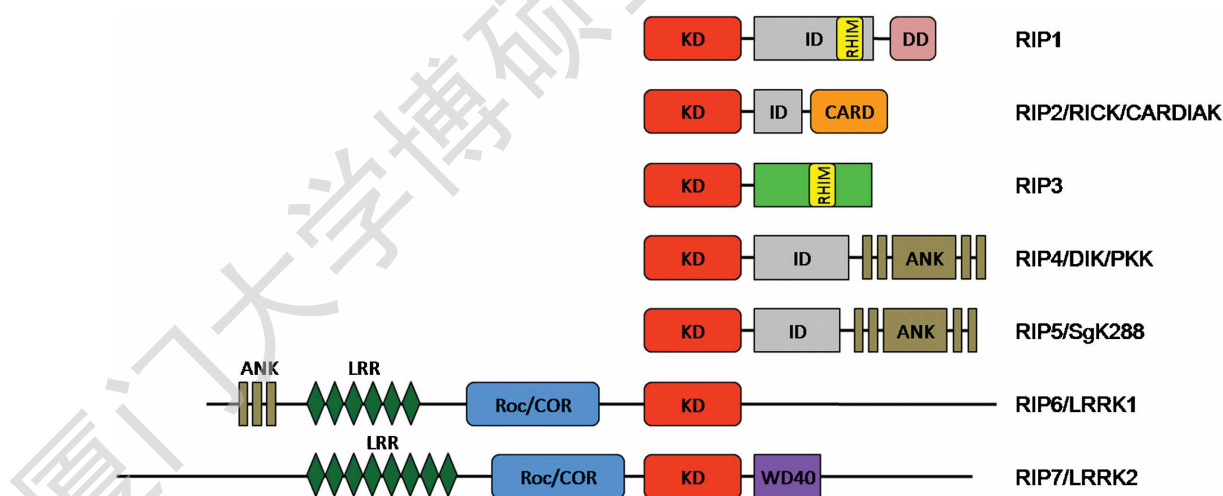


图 1.1 RIP 激酶家族结构模式图

Fig. 1.1 Domain organization of the RIP kinase family

(by Zhang, 2010)

RIP1 和 RIP3 在结构上很相似，除了都具有该家族的激酶结构域外，它们还都拥有一个极其独特的 RIP 同源性的结合模体（RIP homotypic interaction motif,



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库