

Strukturelle Analyse von Phenothiazin-Derivaten als allosterische Inhibitoren der MALT1-Paracaspase**

Florian Schlauderer, Katja Lammens,* Daniel Nagel, Michelle Vincendeau, Andrea C. Eitelhuber, Steven H. L. Verhelst, Dale Kling, Al Chrusciel, Jürgen Ruland, Daniel Krappmann und Karl-Peter Hopfner

Das humane MALT1 (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma translocation protein 1) ist für die Viabilität, Aktivierung und Proliferation von B- und T-Lymphozyten nach Antigen-Stimulation über den kanonischen NF- κ B-Signalweg verantwortlich.^[1] MALT1 ist konstitutiv mit dem BCL10-Protein assoziiert und bildet nach Aktivierung von CARMA1 (CARD-containing membrane-associated guanylate kinase protein 1), CARMA3 oder CARD9 (caspase-recruitment-domain-containing protein 9) den CBM-Komplex.^[2] In dem aktivierten CBM-Komplex ist MALT1 an der Rekrutierung von Proteinen der Signaltransduktion wie TNF (tumor necrosis factor), TRAF6 (receptor-associated factor 6), TAK1 [transforming growth factor (TGF)- β -activated kinase] und der regulatorischen Untereinheit NEMO (NF- κ B essential modulator) des IKK-Komplexes (inhibitor of transcription factor NF- κ B (I κ B) kinase)^[3] beteiligt und unterstützt somit die IKK-Aktivierung.^[4] Neben dieser Proteinnetzwerk-bildenden Funktion besitzt MALT1 eine proteolytische Aktivität, welche für die optimale Aktivierung der T-Zellen essentiell ist.^[5] Eine Prozessierung der MALT1-Substrate BCL10, A20, CYLD und RelB resultiert in verstärkter Aktivierung von NF- κ B und JNK (c-Jun N-terminal kinase) und kontrolliert die T-Zellen-Adhäsion.^[5a,b,6] Zwei Studien zeigen, dass MALT1 durch Ligandenbindung und Dimerisierung der Paracaspasedomäne in einen aktiven Zustand übergeht.^[7] Hingegen führt eine spontane Dimerisierung von MALT1 in vitro zu einer proteolytisch inaktiven Konformation.^[7b] Folglich ist eine zusätzliche strukturelle Umordnung für die Aktivierung der proteolytischen Funktion notwendig, welche

unter anderem durch Monoubiquitinierung der C-terminalen Ig3-Domäne ausgelöst wird.^[7b,8]

Modifikationen der individuellen Proteine des CBM-Komplexes stehen im Zusammenhang mit der Entwicklung verschiedener Lymphome.^[9] Hierbei ist eine deregulierte Expression von CARMA1, BCL10 und MALT1 kritisch für die Viabilität von konstitutiv aktivierten B-Zell-Subtypen des diffusen großzelligen B-Zell-Lymphoms (ABC-DLBCL).^[10] Eine konstitutive MALT1-Aktivität ist ein häufiges Merkmal dieser ABC-DLBCL-Zellen. Darüber hinaus zeigen zwei weitere Studien, dass MALT1 eine wichtige Rolle in der frühen Phase der experimentellen autoimmunen Enzephalomyelitis spielt – eine der humanen multiplen Sklerose ähnliche Erkrankung des zentralen Nervensystems bei Mäusen.^[11] MALT1 könnte demnach ein interessantes therapeutisches Ziel für die Behandlung von multipler Sklerose sein.^[12] Deshalb besteht ein Interesse an der Entwicklung von niedermolekularen Verbindungen, die spezifisch MALT1 inhibieren, was einen vielversprechenden neuen Ansatz in der Behandlung von MALT-Lymphomen, ABC-DLBCL und multipler Sklerose darstellt.^[11b,c]

Kürzlich wurden verschiedene Phenothiazine als Inhibitoren für MALT1 identifiziert, die selektiv toxisch gegen ABC-DLBCL-Zellen in vitro und in vivo wirken.^[13] Die Moleküle Mepazin, Thioridazin und Promazin haben eine lange klinische Vorgeschichte als Antipsychotika.^[14] Bisher war der Inhibitionsmechanismus dieser Substanzen ungeklärt. Ein detailliertes Verständnis der Inhibitor-MALT1-Interaktion ist jedoch essentiell für eine Optimierung der Effi-

[*] F. Schlauderer,^[1] Dr. K. Lammens,^[1] Prof. K.-P. Hopfner
Gene Center, Department of Biochemistry
Ludwig-Maximilians-Universität München
Feodor-Lynen-Straße 25, 80377 München (Deutschland)
E-Mail: klammens@genzentrum.lmu.de

D. Nagel, Dr. M. Vincendeau, Dr. A. C. Eitelhuber, Dr. D. Krappmann
Research Unit Cellular Signal Integration
Institute of Molecular Toxicology and Pharmacology
Helmholtz-Zentrum München
Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg (Deutschland)

Dr. S. H. L. Verhelst
Lehrstuhl für Chemie der Biopolymere
Technische Universität München
Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising (Deutschland)

D. Kling, A. Chrusciel
Kalexyn, Inc. 4502 Campus Drive
Kalamazoo, MI 49008 (USA)

Prof. Dr. J. Ruland
Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie
Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München
81675 München (Deutschland)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken C. Basquin für die CD-Spektroskopie-Messungen und G. Witte für die Unterstützung bei den Fluoreszenz-Versuchen. Wir danken der Max-Planck-Crystallization-Screening-Facility für die ersten Kristallisationsansätze, sowie den Mitarbeitern der Swiss-Light-Source (SLS, Villigen, Schweiz) und der European-Synchrotron-Radiation-Facility (ESRF, Grenoble, France) für die Messzeit und die technische Unterstützung. S.V. wird vom DFG Emmy Noether, F.S., K.L., D.K. und K.P.H. werden vom SFB 1054 unterstützt.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201304290> zu finden.

zienz und Selektivität dieser Moleküle für den therapeutischen Einsatz.

Hier beschreiben wir die Kristallstruktur von humanem MALT1, bestehend aus der Paracaspase und der C-terminalen Ig3-Domäne in Komplex mit dem tricyclischen Phenothiazin-Derivat Thioridazin. Die Struktur zeigt den Inhibitor an einer unerwarteten Position gegenüber des aktiven Zentrums der Protease zwischen der Paracaspase und der Ig3-Domäne-verbindenden Helix α_{1Ig3} (Abbildung 1 a). Diese

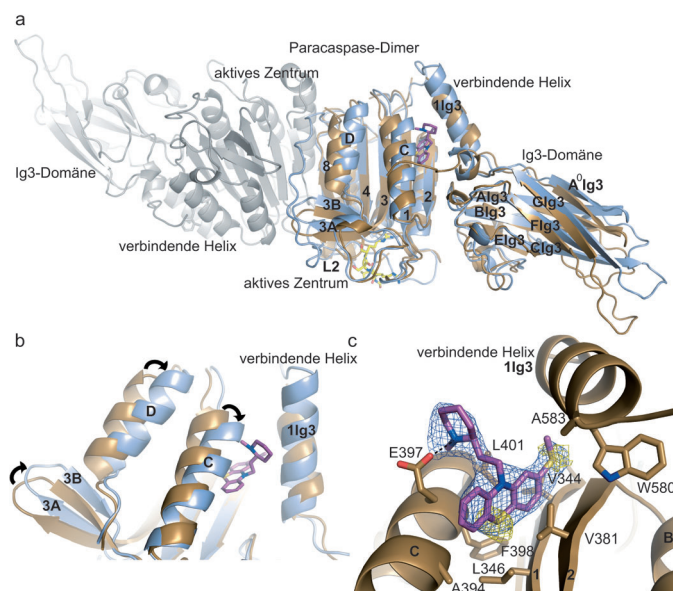


Abbildung 1. Thioridazin bindet an einer allosterischen Position zwischen der Paracaspase und der die Ig3-Domäne verbindende Helix α_{1Ig3} .^[17] a) Überlagerung der MALT1_{Casp-Ig3}-Struktur gebunden an das hex-LRSR-Peptid (hellblau) mit der Thioridazin-gebundenen Struktur (gold). Das biologisch relevante Dimer ist auf der linken Seite grau dargestellt. b) Die Konformationsänderungen von Helix α_C , α_D und der β -Faltblätter 3A und 3B werden durch Thioridazin sterisch verhindert. c) Detaillierte Darstellung der hydrophoben Bindungstasche mit den Thioridazin-interagierenden Aminosäuren in Stabdarstellung. Die finale 2Fo-Fc-Elektronendichte (konturiert bei 1 σ) des Liganden ist in violett und die anomale Elektronendichte in gelb dargestellt (konturiert bei 2.2 σ).

weit vom aktiven Zentrum entfernte allosterische Bindungsstelle erklärt warum Phenothiazin-Derivate als nichtkompetitive, reversible Inhibitoren wirken.^[13] Eine Überlagerung des enzymatisch aktiven MALT1_{Casp-Ig3} Konstruktes im an das Substrat (hex-LRSR-AOMK) gebundenen Zustand (unveröffentlichte Daten) mit der Thioridazin-gebundenen Struktur zeigt, dass die Bindung des Inhibitors zwischen den Helices α_{1Ig3} und α_C die Konformationsänderung zu einem proteolytisch aktiven Enzym verhindert. Diese Konformationsänderung wird auch als zweiter Aktivierungsschritt von MALT1 bezeichnet.^[7b] Dabei ist neben der Liganden-induzierten Umlagerung der Loops im aktiven Zentrum hauptsächlich die Verschiebung der Helices α_C , α_D und der β -Faltblätter 3A und 3B essentiell, um das Enzym in die proteolytisch aktive Konformation zu überführen (Abbildung 1 b). Diese Bewegung der Helices wird durch das gebundene Thioridazin

verhindert, sodass die entscheidende Umlagerung nicht stattfinden kann (Abbildung 1 b). Eine detaillierte Analyse der Interaktionsstelle zeigt, dass das tricyclische Ringsystem in einer hydrophoben Tasche bestehend aus den Aminosäuren A394, F398, L401 in Helix α_C und L346, V344 und V381 in den β -Faltblättern 1 und 2 bindet (Abbildung 1 c). Die Orientierung des 2-Methylthiophenothiazin-Rings konnte über die Position des Schwefelatoms festgelegt werden. Dazu wurde ein Datensatz bei einer Wellenlänge von 1.9 Å aufgenommen und das anomale Signal des Schwefelatoms gemessen (Abbildung 1 c).

Durch die Bindung des Inhibitors wird die Seitenkette von Tryptophan W580 in Helix α_{1Ig3} aus der hydrophoben Tasche in die umgebende Lösung exponiert, was zu einer deutlichen Verlagerung der Helix α_{1Ig3} führt (Abbildung 2 a). Diese Rotation führt zu einer erhöhten Flexibilität der gesamten Ig3-Domäne (Abbildung 1 a). Um den Mechanismus der Inhibition von MALT1 durch verschiedene Phenothiazin-Verbindungen in Lösung nachzuweisen, wurde ein Tryptophan-Fluoreszenzlöschungs-Versuch entwickelt. Dabei war es von großem Vorteil, dass W580 das einzige Tryptophan in dem verwendeten MALT1_{Casp-Ig3}-Konstrukt ist.

Die Tryptophan-Fluoreszenz des MALT1_{Casp-Ig3}-Monomers wurde bei steigender Konzentration von Thioridazin aufgenommen (Abbildung 2). Um zu bestätigen, dass die Titration von Thioridazin keinen Effekt auf die Proteinfaltung von MALT1_{Casp-Ig3} unter den gegebenen Bedingungen hat, wurden Circular dichroismus-Spektren aufgenommen (Abbildung 1 in den Hintergrundinformationen). Die Bindungskonstanten wurden durch Auftragung der Fluoreszenzlöschung des Tryptophans W580 gegen die Konzentration des Inhibitors unter Berücksichtigung von einer Bindungsstelle berechnet. Das äquivalente Experiment wurde mit Mepazin durchgeführt, wobei vergleichbare Ergebnisse erzielt wurden (Abbildung 2 c); diese deuten auf einen universellen Inhibierungsmechanismus verschiedener Phenothiazin-Derivate hin. Als Negativkontrolle für den Tryptophan-Fluoreszenzlöschungs-Versuch wurde das Phenothiazin Promethazin verwendet (Abbildung 2 d), das eine signifikant größere Bindungskonstante zeigt, die mit der geringen inhibitorischen Wirkung *in vivo* korreliert.^[13]

Mithilfe der Struktur des Thioridazin-MALT1-Komplexes kann man gut die Wirkung der verschiedenen Phenothiazin-Modifikationen auf die inhibitorische Effizienz erklären, die bei Nagel et al. bestimmt wurde.^[13] Einerseits besitzt das Phenothiazin-Ringsystem eine optimale Größe für die hydrophobe Tasche und nur geringfügige Änderungen werden toleriert. Andererseits ist die Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem *N*-Methylpiperidin-Stickstoff von Thioridazin und der Glutaminsäure-Seitenkette von E397 für die MALT1-Erkennung verantwortlich (Abbildung 2 a), da das Phenothiazin-Rückgrat alleine nur ein sehr schlechter MALT1-Inhibitor ist. Alle Derivate mit einem Piperidyl-Ringsystem oder einem Stickstoff an gleicher Position wie der Piperidyl-Stickstoff zeigten einen vergleichbaren inhibitorischen Effekt.^[13] Modifikationen wie Keto- oder Hexylgruppen in der Alkyl-Kette verschlechterten die IC₅₀-Werte bis zu zehnfach.^[13] Daraus kann man schlussfolgern, dass das tricyclische Ringsystem und die Methylpiperidyl-Gruppe eine

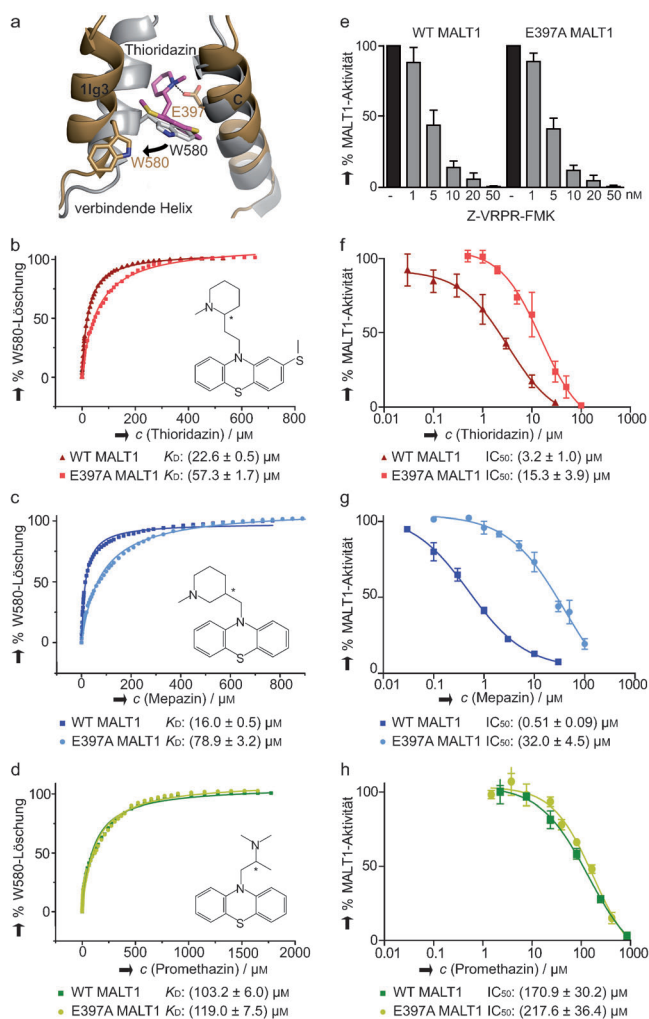


Abbildung 2. Die MALT1-Mutante E397A wird sowohl von Mepazin als auch von Thioridazin schwächer inhibiert. a) Detaillierte Darstellung der W580-Verlagerung und Interaktion von Thioridazin mit E397. Die Thioridazin-gebundene Struktur ist in gold und die Liganden-freie MALT1-Struktur in grau dargestellt (pdb code: 3V55).^[7b] b–d) Tryptophan-Fluoreszenzlöschungs-Titrationsstudie des MALT1^{Casp-Ig3} Wildtyp-Proteins und der E397A-Mutante unter Verwendung von Thioridazin, Mepazin und als Negativkontrolle Promethazin. e) Die proteolytische Aktivität des Wildtyp-Proteins von MALT1 und der E397A-Mutante wird durch den peptidbasierten MALT1-Inhibitor Z-VRPR-FMK inhibiert. Die Daten bestätigen, dass die E397A-Mutation keinen Einfluss auf die enzymatische Aktivität hat. f–h) Der MALT1-Aktivitätsassay wurde mit dem Wildtyp und der E397A-Mutante von GST-MALT1³²⁵⁻⁷⁶⁰ (GST = Glutathion-S-Transferase) nach Inkubation mit Mepazin, Thioridazin und Promethazin durchgeführt.

wichtige Rolle in der Molekülerkennung spielen. Zum Nachweis des Einflusses von Glutaminsäure E397 auf die Thioridazin-Bindung und zur weiteren Verifizierung des Inhibierungsmechanismus wurde die E397A-Mutante hinsichtlich des inhibitorischen Effekts von unterschiedlichen Phenothiazin-Derivaten *in vitro* und *in vivo* getestet. Mithilfe des MALT1-Aktivitätsassays wurde die korrekte Faltung der Mutante *in vitro* bestätigt (Abbildung 2e). Um das inhibitorische Potenzial zu vergleichen, wurden die IC_{50} -Werte von Thioridazin, Mepazin und Promethazin mit dem Wildtyp und

der E397A-Mutante von GST-MALT1³²⁵⁻⁷⁶⁰ bestimmt (Abbildung 1 f–h). Beide Moleküle mit einem Piperidyl-Ringsystem als Seitenkette (Thioridazin und Mepazin) zeigten ein geringeres inhibitorisches Potenzial gegenüber der E397A-Mutante im Vergleich zum Wildtyp GST-MALT1³²⁵⁻⁷⁶⁰. Hingegen zeigte die Mutation keinen Einfluss auf den geringen inhibitorischen Effekt von Promethazin. Diese Ergebnisse stimmen mit den Tryptophan-Fluoreszenzlöschungs-Daten überein und unterstreichen die Rolle von E397 auf die Inhibitor-Bindung und den Einfluss auf das inhibitorische Potenzial dieser Phenothiazin-Derivate *in vitro*.

Um den Inhibierungsmechanismus in humanen Zellen zu analysieren wurde die DLBCL-Patienten-Zelllinie HBL-1 verwendet. Diese wurde mit dem Wildtyp oder der E397A-Mutante von MALT1 transduziert. Nach der Doxycyclin-induzierten MALT1-Expression wurden die Zellen mit Mepazin oder Thioridazin behandelt und die Viabilität der Zellen nach vier Tagen überprüft. Die Ergebnisse zeigten, dass beide Substanzen die Überlebensfähigkeit der mit dem Wildtyp von MALT1 transduzierten Zellen reduzieren; hingegen waren die mit der E397A-Mutante transduzierten HBL-1-Zellen weitgehend resistent gegen die Behandlung mit Mepazin oder Thioridazin (Abbildung 3). Die Histogramme der Fluoreszenz-aktivierten Zellsortierung (FACS) und Western-Blot-Analysen zeigen, dass der Wildtyp und die E397A-Mutante von MALT1 nur nach Zugabe von Doxycyclin exprimiert wurden (Abbildung 2a, b in den Hintergrundinformationen).

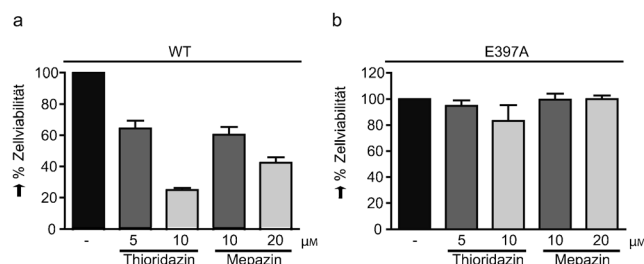


Abbildung 3. HBL-1-Zellen wurden lentiviral mit dem Wildtyp oder der E397A-Mutante von MALT1 transduziert. Daraufhin wurden die Zellen mit Mepazin oder Thioridazin inkubiert und die Viabilität der Zellen nach vier Tagen festgestellt. Die Daten zeigen, dass Mepazin und Thioridazin die Überlebensfähigkeit von Zellen, die den Wildtyp von MALT1 exprimieren, stark beeinträchtigen. Hingegen weisen die Zellen, welche die E397A-Mutante exprimieren, eine weitgehende Resistenz gegenüber den Substanzen auf.

Eine detaillierte Inspektion der Elektronendichte des Inhibitors ergab, dass lediglich das *S*-Enantiomer von Thioridazin in der Kristallstruktur gebunden ist (Abbildung 1 c). Dennoch konnte man nicht ausschließen, dass auch das *R*-Enantiomer mit vergleichbarer Affinität bindet. Um den sterischen Einfluss auf die Bindungsaffinität und das inhibitorische Potenzial zu untersuchen, wurden (*R*)- und (*S*)-Mepazin und Thioridazin mit optischer Reinheit wie in den Hintergrundinformationen beschrieben hergestellt und analysiert. Die (*R*)- und (*S*)-Thioridazin-Enantiomere zeigen äquivalente Bindungsaffinitäten und IC_{50} -Werte (Abbildung 4a, c). Im Gegensatz dazu weist (*S*)-Mepazin eine si-

gnifikant stärkere Bindungsaffinität und ein bis achtfach höheres inhibitorisches Potenzial als (*R*)-Mepazin auf (Abbildung 4b,d). Bisher wurde Thioridazin als racemisches Hydrochlorid-Salz von 10-[2-(1-Methylpiperidin-2-yl)ethyl]-2-methylsulfanylphenothiazin für die symptomatische Therapie psychischer Erkrankungen angewandt.^[14] Dennoch wird vermutet, dass der antipsychotische Effekt auf dem (*R*)-Thioridazin beruht.^[15] Aufgrund der Tatsache, dass (*S*)-Thioridazin

jedem Fall für Langzeittherapien von Autoimmunerkrankungen oder Allergien notwendig.

Die Identifikation der Thioridazin- und Mepazin-Bindungstasche an dem pharmakologisch interessanten MALT1 und die Aufklärung des nichtkompetitiven, allosterischen Mechanismus der MALT1-Inhibition ist für die Entwicklung von Medikamenten gegen MALT1-abhängige Krebs oder Autoimmunerkrankungen von großer Bedeutung.

Eingegangen am 18. Mai 2013

Online veröffentlicht am 14. August 2013

Stichwörter: Krebs · Inhibitoren · Medizinische Chemie · Multiple Sklerose · Thioridazin

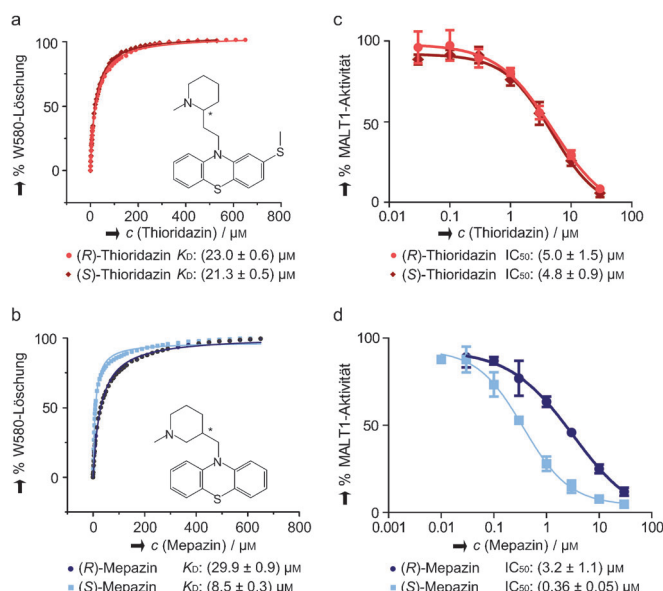


Abbildung 4. Die Mepazin-Enantiomere besitzen unterschiedliche inhibitorische Eigenschaften. a, b) Tryptophan-Fluoreszenzlöschungs-Assay mit den *R*- und *S*-Enantiomeren von Thioridazin und Mepazin. c, d) MALT1-Aktivitätsassay mit dem Wildtyp von GST-MALT1³²⁵⁻⁷⁶⁰ nach Inkubation mit *R*- oder *S*-Enantiomer von Thioridazin und Mepazin. Beide Thioridazin-Enantiomere besitzen eine äquivalente inhibitorische Eigenschaft gegenüber MALT1. (*S*)-Mepazin hingegen inhibiert stärker als das *R*-Enantiomer.

an MALT1 mit vergleichbarer Affinität bindet, könnte die Verwendung des reinen *S*-Enantiomers bei der Behandlung von MALT1-bezogenen Krebs oder Autoimmunerkrankungen Nebenwirkungen verringern. Die verbesserte Affinität von (*S*)-Mepazin stellt einen ersten Schritt in Richtung MALT1-optimierten Phenothiazin-basierten Medikamenten dar.

Seit 1950 sind Thioridazin, Mepazin und andere Phenothiazine im klinischen Einsatz als Antipsychotika mit sedativem Effekt, indem sie als Dopamin-Rezeptor-Antagonisten wirken.^[14] Kürzlich wurde gezeigt, dass Thioridazin selektiv toxisch für Krebsstammzellen (cancer stem cells – CSCs) ist und keinen Effekt auf normale humane pluripotente Stammzellen (hPSC) besitzt. Im Gegensatz zu den MALT1-abhängigen ABC-DLBCL-Zellen exprimieren CSCs Dopamin-Rezeptoren, und Thioridazin beeinflusst das Überleben der Krebsstammzellen indem es als Dopamin-Rezeptor-Antagonist wirkt.^[16] Die Nebenwirkungen des Dopamin-Rezeptor-Antagonismus bei schwerwiegenden MALT1-abhängigen Lymphomen kann bis zu einem gewissen Grad toleriert werden. Selektivere MALT1-Inhibitoren sind jedoch in

- [1] M. Thome, *Nat. Rev. Immunol.* **2008**, *8*, 495–500.
- [2] a) A. G. Uren, K. O'Rourke, L. A. Aravind, M. T. Pisabarro, S. Seshagiri, E. V. Koonin, V. M. Dixit, *Mol. Cell* **2000**, *6*, 961–967; b) H. Zhou, M. Q. Du, V. M. Dixit, *Cancer cell* **2005**, *7*, 425–431.
- [3] a) L. Sun, L. Deng, C. K. Ea, Z. P. Xia, Z. J. Chen, *Mol. Cell* **2004**, *14*, 289–301; b) O. Gaide, B. Favier, D. F. Legler, D. Bonnet, B. Brissoni, S. Valitutti, C. Bron, J. Tschopp, M. Thome, *Nat. Immunol.* **2002**, *3*, 836–843.
- [4] A. Oeckinghaus, E. Wegener, V. Welteke, U. Ferch, S. C. Arslan, J. Ruland, C. Scheidereit, D. Krappmann, *EMBO J.* **2007**, *26*, 4634–4645.
- [5] a) F. Rebeaud, S. Hailfinger, A. Posevitz-Fejfar, M. Tapernoux, R. Moser, D. Rueda, O. Gaide, M. Guzzardi, E. M. Iancu, N. Rufer, N. Fasel, M. Thome, *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 272–281; b) B. Coornaert, M. Baens, K. Heynincx, T. Bekaert, M. Haegman, J. Staal, L. Sun, Z. J. Chen, P. Marynen, R. Beyaert, *Nat. Immunol.* **2008**, *9*, 263–271; c) M. Duwel, V. Welteke, A. Oeckinghaus, M. Baens, B. Kloos, U. Ferch, B. G. Darnay, J. Ruland, P. Marynen, D. Krappmann, *J. Immunol.* **2009**, *182*, 7718–7728.
- [6] a) S. Hailfinger, H. Nogai, C. Pelzer, M. Jaworski, K. Cabalzar, J. E. Charton, M. Guzzardi, C. Decaillet, M. Grau, B. Dorken, P. Lenz, G. Lenz, M. Thome, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 14596–14601; b) S. Rosebeck, P. C. Lucas, L. M. McAllister-Lucas, *Future Oncol.* **2011**, *7*, 613–617; c) J. Staal, Y. Driege, T. Bekaert, A. Demeyer, D. Muylleert, P. Van Damme, K. Gevaert, R. Beyaert, *EMBO J.* **2011**, *30*, 1742–1752.
- [7] a) J. Hachmann, S. J. Snipas, B. J. van Raam, E. M. Cancino, E. J. Houlihan, M. Poreba, P. Kasperkiewicz, M. Drag, G. S. Salvesen, *Biochem. J.* **2012**, *443*, 287–295; b) C. Wiesmann, L. Leder, J. Blank, A. Bernardi, S. Melkko, A. Decock, A. D'Arcy, F. Villard, P. Erbel, N. Hughes, F. Freuler, R. Nikolay, J. Alves, F. Bornancin, M. Renatus, *J. Mol. Biol.* **2012**, *419*, 4–21; c) J. W. Yu, P. D. Jeffrey, J. Y. Ha, X. Yang, Y. Shi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 21004–21009.
- [8] C. Pelzer, K. Cabalzar, A. Wolf, M. Gonzalez, G. Lenz, M. Thome, *Nat. Immunol.* **2013**, *14*, 337–345.
- [9] L. M. Staudt, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2010**, *2*, a000109.
- [10] V. N. Ngo, R. E. Davis, L. Lamy, X. Yu, H. Zhao, G. Lenz, L. T. Lam, S. Dave, L. Yang, J. Powell, L. M. Staudt, *Nature* **2006**, *441*, 106–110.
- [11] a) A. G. Baxter, *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 904–912; b) C. Mc Guire, P. Wieghofer, L. Elton, D. Muylleert, M. Prinz, R. Beyaert, G. van Loo, *J. Immunol.* **2013**, *190*, 2896–2903; c) A. Brüstle, D. Brenner, C. B. Knobbe, P. A. Lang, C. Virtanen, B. M. Hershenfield, C. Reardon, S. M. Lacher, J. Ruland, P. S. Ohashi, T. W. Mak, *J. Clin. Invest.* **2012**, *122*, 4698–4709.
- [12] B. D. Trapp, K. A. Nave, *Annu. Rev. Neurosci.* **2008**, *31*, 247–269.

- [13] D. Nagel, S. Spranger, M. Vincendeau, M. Grau, S. Raffeggerst, B. Kloos, D. Hlahla, M. Neuenschwander, J. P. von Kries, K. Hadian, B. Dorken, P. Lenz, G. Lenz, D. J. Schendel, D. Krappmann, *Cancer Cell* **2012**, 22, 825–837.
- [14] P. Seeman, T. Lee, *Science* **1975**, 188, 1217–1219.
- [15] S. A. Jortani, A. Poklis, *J. Anal. Toxicol.* **1993**, 17, 374–377.
- [16] E. Sachlos, R. M. Risueno, S. Laronde, Z. Shapovalova, J. H. Lee, J. Russell, M. Malig, J. D. McNicol, A. Fiebig-Comyn, M. Graham, M. Levadoux-Martin, J. B. Lee, A. O. Giacomelli, J. A. Hassell, D. Fischer-Russell, M. R. Trus, R. Foley, B. Leber, A. Xenocostas, E. D. Brown, T. J. Collins, M. Bhatia, *Cell* **2012**, 149, 1284–1297.
- [17] Die Struktur von MALT1_{Casp-Ig3} in Komplex mit Thioridazin wurde in der PDB (4I1R) hinterlegt.
-