

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Marie Vaničková

Funkce otevřených konformací molekul MHC 1. třídy
Functions of open MHC class I molecule conformations

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Ingrid Poláková, Ph. D.

Praha, 2023

Poděkování

Na tomto místě bych moc ráda poděkovala své školitelce RNDr. Ingrid Polákové, Ph.D. za velmi přátelský, a hlavně trpělivý přístup s cennými radami k této závěrečné práci.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 3.8.2023

Podpis:

Marie Vaníčková

Abstrakt

Molekuly MHC I. třídy (MHC I) hrají významnou roli v adaptivní imunitě, jelikož prezentují na buněčném povrchu antigenní peptidy pocházející z intracelulárního prostředí. Jsou rozeznávány CD8⁺ T-lymfocyty a mohou také *trans*-interagovat s receptory NK buněk.

MHC I se skládají z těžkého řetězce, z $\beta 2$ mikroglobulinu ($\beta 2m$, lehký řetězec) a peptidu, což tvoří uzavřenou konformaci MHC I. $\beta 2m$ je nekovalentně připojen k těžkému řetězci sestávajícího se z extracelulární domény (podjednotky $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$), transmembránové domény a cytoplazmatické domény (s obsahem konzervovaných motivů). Při aktivním buněčném metabolismu může dojít k disociaci peptidu a $\beta 2m$ z těžkého řetězce MHC I, a tím dochází k vytvoření otevřené konformace. Vlivem změny konformace dochází k rozbalení podjednotky $\alpha 1$, která tak může interagovat s různými receptory a molekulami.

Otevřené MHC I vytvářejí *cis*-interakce buď sami se sebou, čímž vznikají homodimery realizujících imunologické funkce, nebo s receptory na buněčném povrchu tvořících heterodimery, které realizují neimunologické funkce. Mimo povrch buňky se vyskytují v rozpustné formě. *Cis*-asociace jsou velmi důležité, jelikož ovlivňují buněčnou signalizaci a inhibici/aktivaci T-lymfocytů a NK buněk či únik nádorových buněk před imunitou. Přesný mechanismus vzniku, exprese a funkce otevřených konformerů MHC I, není znám. Bylo zjištěno, že se nacházejí u řady onkologických a autoimunitních chorob či virových infekcí. Mohou tedy sloužit jako prognostické faktory a zkoumání a pochopení jejich biologické funkce by mohlo přispět k porozumění vzniku řady onemocnění.

Klíčová slova: MHC I, otevřené a uzavřené konformace MHC I, *cis*-interakce, CD8⁺ T-lymfocyty, NK-buňky

Abstract

The major role of MHC class I molecules in adaptive system is to present antigen peptides derived from intracellular environment on the cell surface. These peptides are recognized by CD8⁺ T-lymphocytes and they can also interact with NK cells via *trans*-interaction.

MHC class I molecules are composed of a heavy chain, β 2-microglobulin (β 2m, light chain) and peptide, forming a closed conformation. The heavy chain is non-covalently associated with the light chain and is folded into extracellular domain (α 1, α 2, α 3 subunits), transmembrane domain and cytoplasmic domain (with conserved motifs). Upon active metabolism, the β 2m and peptide may dissociate from the MHC I heavy chain what leads to the formation of open conformations of MHC I. This conformational change causes the subunit to unfold and allow its interaction with various receptors and molecules.

Open conformers of MHC I may form *cis*-interactions with themselves creating homodimers involved in immunological functions or they can associate with different receptors on the cell surface creating heterodimers responsible for non-immunological functions. Soluble forms of free heavy chains also exist outside of the cell surface. *Cis*-associations are very important as they influence signaling pathways of the cell, inhibition or activation of T-lymphocytes and NK cells or tumor escape from the immune system. However, the exact mechanism of the formation, expression, and function of open MHC I conformers is not completely understood. They can be detected in several oncological, autoimmune, and viral infectious diseases. They can be used as prognostic factors and the studying and understanding of their biological functions could contribute to understanding the origins of several diseases.

Key words: MHC I, open and closed conformations of MHC I, *cis*-interaction, CD8⁺ T-lymphocytes, NK-cells

Seznam zkratek

Arf6	ADP-ribosylation factor 6	ADP-ribozylační faktor 6
Asp	aspartic acid	kyselina asparagová
Bap31	B cell receptor-associated protein 31	protein 31 spojený s B buněčným receptorem
Cys	cysteine	cystein
DRM	detergent-resistant membrane	detergent-rezistentní membrána
EEs	early endosomes	časné endozomy
EGF	epidermal growth factor	epidermální růstový faktor
EGFR	receptor of epidermal growth factor	receptor pro epidermální růstový faktor
ER	endoplasmic reticulum	endoplazmatické retikulum
ERAP1	ER aminopeptidase associated with antigen processing 1	aminopeptidáza ER spojená se zpracováním antigenu 1
ERK1/2	extracellular signal-regulated kinases 1 and 2	kinázy 1 a 2 regulované mimobuněčným signálem
ERp57	thiol-disulfide oxidoreductase	thiol-disulfid oxidoreduktáza
Glu	glutamine	glutamin
Gly	glycine	glycin
HLA	human leukocyte antigen	lidský leukocytární antigen
IFN γ	interferon gamma	interferon gamma
IL	interleukin	interleukin
IR	insuline receptor	inzulínový receptor
JRC	juxtannuclear recycling compartment	juxtannukleární recyklační kompartment
KIR	killer-cell immunoglobulin-like receptor	imunoglobulinový receptor “zabijáckých buněk“
LAMP1	lysosomal-associated membrane protein 1	membránový protein 1 spojený s lyzozomem
LEs	late endosomes	pozdní endozomy
Leu	leucine	leucin
LILR	leukocyte immunoglobulin-like receptor	imunoglobulinový receptor leukocytů

LY	lysosome	lyzozom
Lys	lysine	lyzin
MHC	major histocompatibility complex	hlavní histokompatibilní komplex
NK	natural killer	přirozený zabíječ
NKG2	natural killer cell receptor family	receptorová rodina přirozených zabíječů
PLC	peptide loading complex	vazebný komplex pro peptidy
Rab	Ras-associated binding proteins	Ras-asociované vazebné proteiny
RE	recycling endosome	recyklační endozom
Ser	serine	serin
sHLA	soluble human leukocyte antigen	rozpustný lidský leukocytární antigen
TAP	transporter associated with antigen processing	transportér spojený se zpracováním antigenu
TCR	T-cell receptor	T-buněčný receptor
TEE	tubular early endosome	tubulární časný endozom
TNF	tumor necrosis factor	faktor nádorové nekrózy
Tyr	tyrosine	tyrozin
VEE	vacuolar early endosome	vakuolární časný endozom
β2m	beta2-microglobulin	beta2-mikroglobulin

Obsah

Úvod	1
1 Molekuly MHC I	2
1.1 Základní struktura molekul MHC I	2
1.2 Vznik MHC I vazebného komplexu pro peptidy	3
1.3 Funkce MHC I	5
2 Otevřené konformace MHC I	5
2.1 Výskyt a vzájemná interakce otevřených konformací MHC I	7
2.1.1 Cis-interakce	7
2.1.2 Trans-interakce	7
2.2 Vznik a recyklace otevřených konformací	9
3 cis-asociace otevřených MHC I	10
3.1 Homotypické cis-asociace otevřených MHC I	11
3.1.1 Kovaletní asociace těžkých řetězců HLA I	11
3.1.2 Nekovalentní asociace těžkých řetězců HLA I	12
3.2 Heterotypické cis-asociace otevřených MHC I	14
4 Rozpustné MHC I a jejich funkce při úniku nádoru před imunitou	16
5 Závěr	18
6 Seznam použité literatury	20

Úvod

MHC I mají různé funkce, které vyplývají z jejich struktury. Otevřené konformace se účastní řady imunologických i neimunologických pochodů a stále se hromadící studie ukazují, že jejich výskyt a interakce mohou ovlivňovat únik nádorů před imunitním systémem, vznik a rozvoj autoimunitních chorob či nádorových a neurodegenerativních onemocnění. Mechanismus vzniku a funkce otevřených konformací ale stále není zcela vysvětlen a vlivem prokázané role při řadě onemocnění si žádá důkladnější probádání.

Uzavřené konformace MHC I se skládají z lehkého řetězce tvořeného β_2m , který se nekovalentně připojuje k těžkému řetězci. Na vzniklé molekuly MHC I se poté váže antigenní peptid, který je prezentován $CD8^+$ T-lymfocytům. Vlivem aktivního buněčného mechanismu může dojít k disociaci β_2m s peptidem, která vyvolá konformační změnu, vlivem které vznikají otevřené konformery MHC I. Ty mohou interagovat s hormonovými receptory, růstovými faktory, cytokiny, dalšími MHC I, NK buňkami nebo T-lymfocyty a tím ovlivňují buněčnou signalizaci, proliferaci a modulují imunitní odpovědi zprostředkované T-lymfocyty a NK buňkami vlivem rozpoznání struktur inhibičními receptory. Těchto změn využívají právě nádorové buňky, které tak mohou vytvářet mechanismy pro únik před likvidací imunitním systémem.

V této bakalářské práci bylo hlavním cílem popsat struktury MHC I a přiblížit známé informace o otevřených konformerů MHC I v kontextu různých funkcí a rolí při vzniku a patogenezi řady onemocnění. Měla by také poukázat na důležitost zkoumání interakcí a vzniku otevřených MHC I.

1 Molekuly MHC I

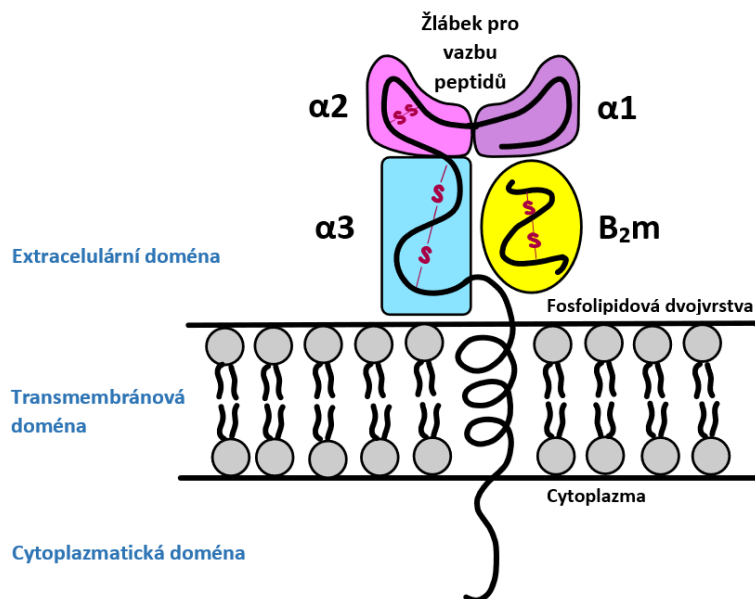
Molekuly MHC jsou vysoce polymorfní proteiny, které se dělí na MHC I. třídy, MHC II. třídy a MHC III. třídy (Milner et al., 2001). První dvě třídy hrají významnou roli v adaptivní imunitě, jelikož prezentují na buněčném povrchu antigeny, které rozeznávají T-lymfocyty. MHC I. třídy se vyskytují na jaderných buňkách a jsou rozeznávány pomocí cytotoxických $CD8^+$ T-lymfocytů. MHC II. třídy se nacházejí na antigen prezentujících buňkách a jejich rozeznání probíhá pomocí $CD4^+$ T-lymfocytů (Wieczorek et al., 2017). MHC III. třídy se nepodílejí na prezentování antigenu, ale mají významnou roli v humorální imunitě, jelikož kódují tři složky komplementu (C2, C4 a faktor B) (Milner et al., 2001).

MHC molekuly se u člověka nazývají lidský leukocytární antigen (HLA). HLA I. třídy se dělí na izotypy klasické (HLA-A, HLA-B a HLA-C) (Solberg et al., 2008) a neklasické (HLA-E, HLA-F a HLA-G). Neklasické izotypy mají na rozdíl od klasických izotypů omezenější polymorfismus a expresi na buněčných površích. (Braud et al., 1999). Geny pro HLA jsou přítomné na chromozomu 6 (Solberg et al., 2008). U myši se MHC molekuly označují jako H-2 a dělí se na klasické (H-2K, H-2D, H-2L) a neklasické izotypy (H-2Q, H-2T, H-2M). Geny pro H-2 se nacházejí na chromozomu 17 (Stroynowski, 1990).

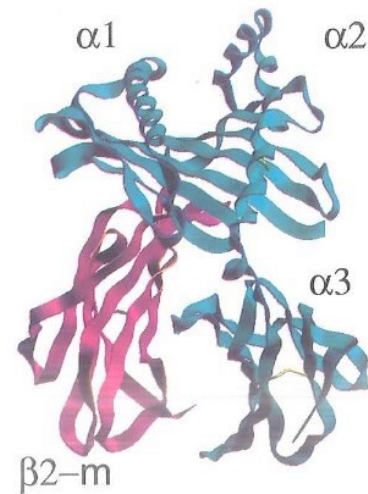
1.1 Základní struktura molekul MHC I

Lidské a myší klasické molekuly MHC I se skládají z těžkého a lehkého řetězce a z 8-12 aminokyselin dlouhého peptidu (Obrázek č.1). Tyto struktury jsou mezi sebou spojeny pomocí nekovalentních vazeb. Těžký řetězec tvoří tři extracelulární domény; vysoce polymorfní domény $\alpha 1$ a $\alpha 2$ s vazebným místem pro peptidy a konzervovaná doména $\alpha 3$ (Arosa et al., 2021). Tento řetězec je glykozylován (Blum et al., 2013) a jeho molekulová hmotnost je 45 kD (Grey et al., 1973). Lehký řetězec je tvořen rozpustným $\beta 2$ -mikroglobulinem ($\beta 2m$), který je u lidí kódován mimo MHC genovou oblast na 15. chromozomu (Blum et al., 2013; Kucherlapati et al., 1976). $\beta 2m$ stabilizuje těžký řetězec (Bouvier et al., 1998) a jeho molekulová hmotnost je 12 kD (Berggård et al., 1968).

A)



B)



Obrázek č.1: Struktura MHC I glykoproteinu. (A) Schematicky znázorněná struktura MHC I s červeně vyznačenými disulfidickými můstky. (B) Struktura těžkého (modře) a lehkého řetězce (růžově). $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce; $\beta 2m$ = $\beta 2$ -mikroglobulin (převzato z Natarajan et.al., 1999).

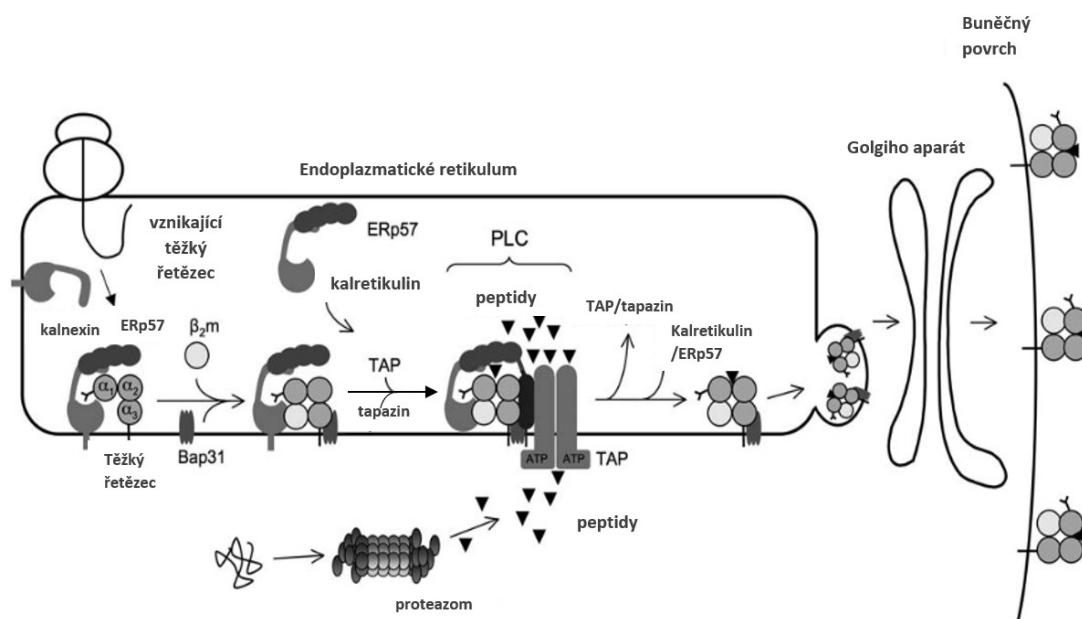
1.2 Vznik MHC I vazebného komplexu pro peptidy

Na molekuly MHC I se připojují peptidy, které pocházejí z virů, intracelulárních parazitů nebo ze zmutovaných proteinů. Polyubikvitinované proteiny se v cytosolu vážou na proteazom nebo na imunoproteazom, který je rozštěpí na jednotlivé peptidy. Tyto peptidy jsou dále transportovány do endoplazmatického retikula (ER) pomocí transportéru spojeného se zpracováním antigenu (TAP) tvořeného z komplexu heterodimerů TAP1 a TAP2.

V ER jsou peptidy upravené na požadovanou délku pomocí enzymu aminopeptidázy ER spojené se zpracováním antigenu 1 (ERAP1). Formování MHC I komplexu v ER probíhá díky chaperonům kalnexinu, thiol-disulfid oxidoreduktázy (ERp57), kalretikulinu, tapazinu (Leone et al., 2013) a proteinu spojeného s B buněčným receptorem (Bap31) (Obrázek č.2). Ihned po syntéze těžkého řetězce dochází k vazbě kalnexinu a zároveň i ERp57, která katalyzuje oxidaci, redukci a izomeraci disulfidů. Poté se k těžkému řetězci připojuje $\beta 2m$, kde touto vazbou indukuje v lidských buňkách výměnu kalnexinu za homologní rozpustný kalretikulin. U myši může být v komplexu těžkého řetězce s $\beta 2m$ přítomen buď kalnexin nebo kalretikulin. Do takto vzniklého heterodimeru MHC I bez peptidu se v tomto bodě váže i protein Bap31, který je důležitý pro transport z ER do Golgiho aparátu. Následně dochází k navázání tapazinu a TAP (Zhang et al., 2006). Tapazin se nekovalentně váže do aktivního místa ERp57

na cysteinový zbytek, a tím tvoří heterodimer (tapazin/ERp57), který stabilizuje MHC I komplex bez peptidu. Díky vazbě tapazinu na TAP dochází k usnadnění připojení peptidu na MHC I heterodimer. Takto vzniká MHC I vazebný komplex pro peptidy (PLC) (Dong et al., 2009).

Po připojení peptidu je vzniklý komplex MHC I transportován pomocí váček přes Golgiho aparát na povrch buněčné membrány, kde je rozeznán cytotoxickými T-lymfocyty (Leone et al., 2013). Špatně složené MHC I jsou transportovány zpět do cytosolu, kde následně dochází k jejich degradaci (Hughes et al., 1997) nebo opětovné recyklaci na buněčný povrch (Mahmutefendić et al., 2017).



Obrázek č.2: Znázornění vzniku MHC I peptidového vazebného komplexu v ER. Bap31 = protein spojený s B buněčným receptorem; ERp57 = thiol-disulfid oxidoreduktáza; PLC = vazebný komplex pro peptidy; TAP = transportér spojený se zpracováním antigenu; β2m = β2-mikroglobulin (převzato a upraveno ze Zhang et al., 2006).

Kromě intracelulárních peptidů může MHC I prezentovat i peptidy pocházející z extracelulárního prostředí díky takzvané zkřížené prezentaci antigenů. Exogenní peptidy jsou fagocytovány pomocí dendritických buněk nebo endocytózy. Následně jsou vypuštěny do cytosolu, kde probíhá jejich úprava a následně navázání na MHC I v ER (obdobně jako u intracelulárních peptidů). Alternativní dráha exogenních peptidů zahrnuje degradaci ve speciálních endozomálních kompartmentech, ve kterých se vážou na prázdné MHC I. Vlivem endozomálního transportu mohou vznikat otevřené MHC I konformery, což umožňuje

jejich *trans*-interakce s membránovými receptory či proteiny (viz Kapitola 2) (Donaldson et al., 2009; MacAry et al., 2001).

1.3 Funkce MHC I

V poslední době se prokazuje, že molekuly MHC I hrají významnou roli nejen v adaptivní imunitě, ale i v řadě neimunologických funkcí (Arosa et al., 2021). Různé formy MHC I mají různou konformaci, která se odlišuje od nejzákladnější struktury MHC I. Různé funkce pak vyplývají právě z dané formy struktury.

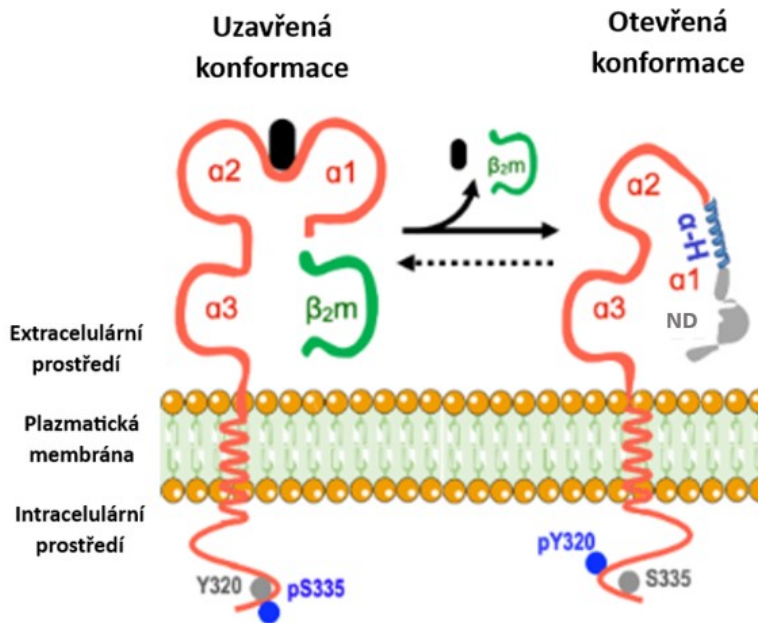
Hlavní funkcí lidských MHC I glykoproteinů je schopnost vázat peptidy z endogenních proteinů, které pocházejí z intracelulárních parazitů, virů, prvoků, některých bakterií a nádorových buněk. Tyto peptidy jsou poté prezentovány v komplexu MHC I/peptid na buněčném povrchu CD8⁺ T-lymfocytům, což hraje významnou roli ve spuštění imunitní odpovědi proti danému patogenu. Přes své receptory dovedou MHC I molekuly inhibovat či stimulovat také aktivitu NK (z angl. natural killer) buněk (Natarajan et al., 1999). Díky vysokému polymorfismu klasických MHC I je možné rozpoznat široké škály antigenních peptidů a receptorů T-lymfocytů (Parham et al., 1988). Aktivitu NK a T-buněk řídí MHC I komplex skrz své rozpoznání pomocí imunoglobulinového receptoru “zabijáckých buněk“ (KIR) a imunoglobulinového receptoru leukocytů (LILR). Například pro ochranu před rejekcí plodu (Raine et al., 2006) trofoblast exprimuje pouze izotypy HLA-G a HLA-C. HLA-G inhibuje cytotoxickou aktivitu T-lymfocytů a HLA-C rozeznává KIR receptor (p58), což má za následek vznik inhibičního signálu pro NK buňky (King et al., 1997).

Mezi neimunologické funkce MHC I patří například interakce s růstovými faktory, neurotransmitery, cytokiny a hormonovými receptory. Tyto interakce jsou asociované s nádorovým únikem, transplantacemi, autoimunitními reakcemi a vývojem neuronů (Arosa et al., 2021).

2 Otevřené konformace MHC I

Aby mohl být komplex MHC I s navázaným peptidem na buněčném povrchu rozpoznán, musí být ve stabilní a uzavřené konformaci. Při podmínkách aktivního buněčného metabolismu (buněčná aktivace a proliferace, buněčné stresové odpovědi, zánět) však může nastat situace, kdy v MHC I komplexu peptid a β 2m disociují. V důsledku disociace zanikají nekovalentní

vazby u $\alpha 1$ domény, která se poté může rozbalit a interagovat s receptory (Obrázek č.3). Tento jev doprovází konformační změna MHC I, a výsledná konformace se označuje jako otevřená (Arosa et al., 2021).



Obrázek č.3: Vznik otevřené konformace MHC I vlivem disociace $\beta 2m$ a peptidu (černý ovál). Konzervované motivy cytoplazmatické domény v závislosti na typu konformace jsou buď fosforylované nebo defosforylované. Fosforylace je značena písmenem „p“ a modrým kruhem a defosforylaci značí šedý kruh. S335 = serinový zbytek na pozici 335; Y320 = tyrozinový zbytek na pozici 320; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce; α -H = α -helix; ND = neuspořádaná doména; $\beta 2m$ = $\beta 2$ -mikroglobulin (převzato a upraveno z Arosa et al., 2021).

Těžký řetězec MHC I obsahuje cytoplazmatickou doménu, která má několik biologických funkcí. Předpokládá se například, že interaguje s buněčným cytoskeletem, čímž může hrát roli v indukci cytotoxických T-lymfocytů. Cytoplazmatická doména obsahuje vysoce konzervované motivy, u myši je kódována exony 6,7,8 a částí exonu 5 (Zuniga et al., 1983).

Mezi motivy patří vysoce konzervovaná sekvence Ser-Asp/Glu-X-Ser-Leu, která je kódována exonem 7 a nachází se u lidí, myši, prasat a králíků (McCluskey et al., 1986). U lidí a myši se serinové zbytky (Ser) nacházejí na pozici 332 a 335. V uzavřené konformaci MHC I při podmínkách *in vivo* dochází u lidí k fosforylaci druhého serinu (Ser335) v konzervované sekvenci (na HLA-A a HLA-B) (Guild et al., 1984; Pober et al., 1978). U myši dochází k fosforylaci serinu také (Rothbard et al., 1980).

Druhým konzervovaným motivem je sekvence Lys-Gly-Gly-Ser-Tyr, která je kódovaná exonem 6. Tyrosinový zbytek (Tyr) se u lidí nachází na pozici 320 (u HLA-A a HLA-B) a u myši na pozici 321 (Guild et al., 1983). Tato tyrosinová sekvence hraje významnou roli při endolyzozomálním transportu MHC I v dendritických buňkách, jelikož je součástí cíleného signálu pro intracelulární transport (Lizée et al., 2003).

Při vzniku otevřených konformací dochází vlivem disociace β 2m a peptidu ke konformačním změnám těžkého řetězce v extracelulární doméně. Konformační změna se přenáší do cytoplazmatické domény (Obrázek č.3) (Smith et al., 1990), což umožňuje fosforylaci tyrosinového zbytku na pozici 320 v aktivovaných T-lymfocytech. Tyrosinový zbytek je spojen s kinázovou aktivitou, a díky jeho fosforylaci dochází k *cis*-interakcím otevřených konformací s různými receptory či molekulami (Santos et al., 2004). Při konformačních změnách těžkého řetězce jsou serinové zbytky v otevřených konformacích defosforylovány (Thor et al., 1993).

2.1 Výskyt a vzájemná interakce otevřených konformací MHC I

U člověka se otevřené konformace MHC I vyskytují především na povrchu aktivovaných T-buněk (Schnabl et al., 1990), ale i u monocytů (Cardoso et al., 2018), B-buněk, trofoblastu a maligních buněk (Arosa et al., 2021). Tyto konformace lze nalézt také u některých onemocnění, jako například v krvi pacientů s ankylozující spondylartritidou (Tsai et al., 2002) či u pacientů s pravou polycytémií (Cardoso et al., 2018). Existence otevřené konformace MHC I byla nalezena také v rozpustné formě mimo buněčnou membránu (Demaria et al., 1992).

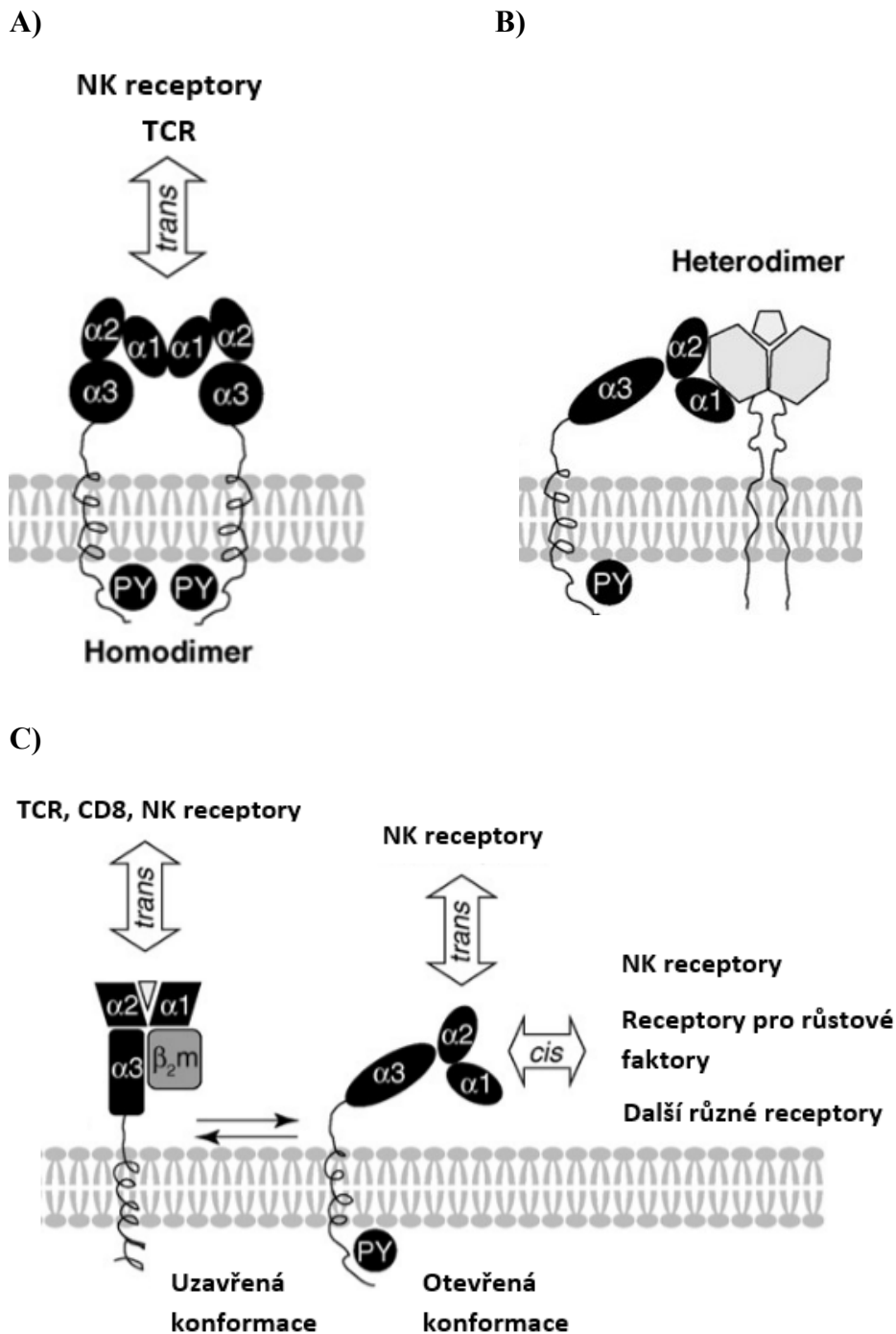
2.1.1 Cis-interakce

U MHC I může docházet k *cis*-interakcím, které korelují s výskytem otevřených konformací. Volné těžké řetězce MHC I vytváří *cis*-asociace buď se sebou samými, přičemž se vytváří homodimery, či s různými imunologickými a neimunologickými receptory, čímž dochází k tvorbě heterodimerů (Obrázek č.4A,B) (Arosa et al., 2007).

2.1.2 Trans-interakce

Uzavřené MHC I konformery tvoří na povrchu buňky *trans*-interakce s receptory CD8⁺ T-lymfocytů a inhibičními či aktivačními receptory NK buněk zahrnující receptory KIR, LILR, či receptory C-lektinového typu CD94/NKG2 a NKG2D. U otevřených konformací MHC I dochází u *cis*-asociovaných homodimerů k *trans*-interakcím s receptory NK buněk

a CD4⁺ T-lymfocyty (Obrázek č.4C) (Arosa et al., 2007). K *trans*-interakcím s receptory dochází i u rozpustných molekul MHC I (Spaggiari et al., 2002).



Obrázek č.4: Znázornění pozice *cis*- a *trans*-interakcí u otevřené a uzavřené konformace MHC I (A), homodimerů (B) a heterodimerů (C) v závislosti na typu receptoru. NK = přirozený zabíječ; PY = fosforylovaný tyrozín; TCR = T-buněčný receptor; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce; $\beta 2 m$ = $\beta 2$ -mikroglobulin (převzato z Arosa et al., 2007).

2.2 Vznik a recyklace otevřených konformací

Různé studie prokázaly odlišný vznik otevřených konformací MHC I. Uzavřené konformace dávají vzniku otevřeným konformacím MHC I buď vlivem disociace $\beta 2m$ a peptidu na buněčném povrchu nebo během endozomální recyklace. V některých studiích se otevřené konformace definují jako těžké řetězce s $\beta 2m$, které postrádají peptid. Stále se však neví přesně, jak dochází k vytváření endozomálních a povrchových otevřených konformací MHC I. Jejich osud by totiž měl směřovat k degradaci skrz existenci složité mašinérie v ER monitorující stav a kvalitu MHC I konformerů. Tato mašinérie rozeznává MHC I bez peptidu jako špatně složenou strukturu a zahazuje mechanismy pro její štěpení (Arosa et al., 2021; Mahmutefendić et al., 2013).

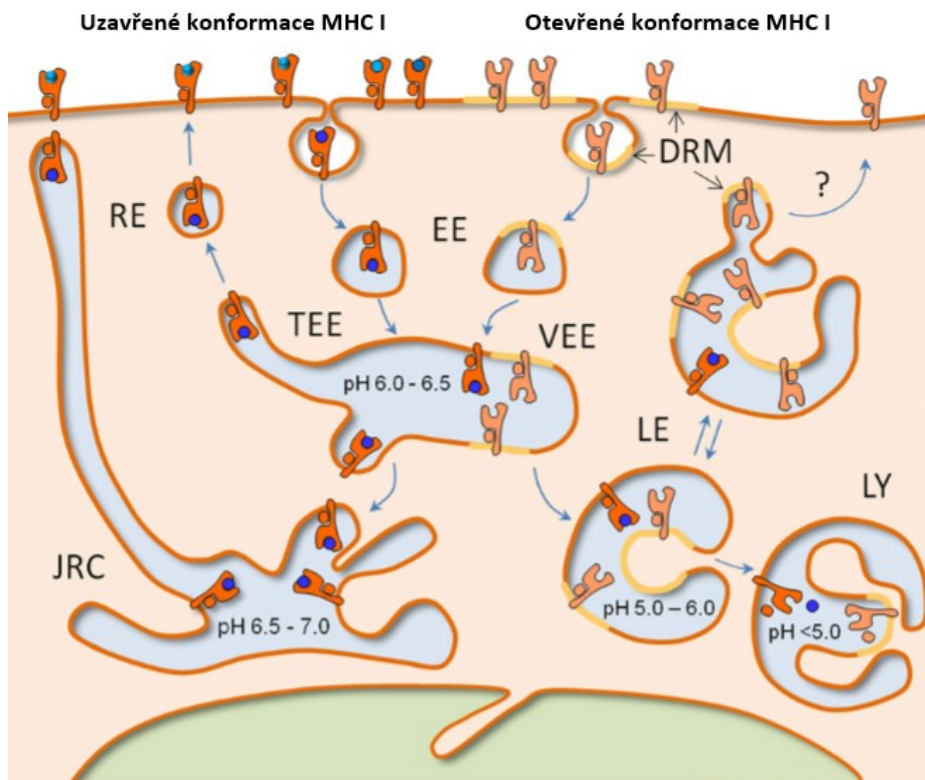
MHC I jsou z plazmatické membrány po určité době endocytovány a při tranzitu či recyklaci na buněčný povrch mohou vázat nové peptidy (Grommé et al., 1999). Cytoplazmatická doména MHC I těžkého řetězce neobsahuje motiv esenciální pro klatrinem zprostředkovanou endocytózu (Donaldson et al., 2009). Endocytóza MHC I je závislá na ADP-ribozylačním faktoru 6 (Arf6) a nezávislá na klatrinu (Hue& et al., 1980) a dynaminu (Naslavsky et al., 2003).

Z buněčného povrchu jsou MHC I transportovány nejprve do primárních endocytárních vezikul, a poté jsou přeneseny do časných endozomů (EEs), které slouží jako “třídící stanice“ (pro roztržení obsahu do recyklačních či degradačních kompartmentů) a jsou asociované s proteinem Rab5 (Chavrier et al., 1990) regulujícím transport časných vezikulů (Jin et al., 2022). Organizace EEs se sestává z tubulárních a vakuolárních domén (Mahmutefendić et al., 2013). Uzavřené a otevřené (ve studii definované jako MHC I bez peptidu) MHC I konformery se shromažďují v časných vakuolárních endozomech. Většina uzavřených MHC I je poté odkloněna do tubulárních časných endozomů, které splývají v juxt nukleární recyklační endozomy (Obrázek č.5)(Mahmutefendić et al., 2011).

Endocytóza otevřených konformací nemusí být závislá na uzavřených konformacích MHC I. Bylo zjištěno, že otevřené konformace MHC I zůstávají ve vakuolárních časných endozomech, jsou lokalizovány v perinukleární oblasti a časem maturují do pozdních endozomů (LEs) (Mahmutefendić et al., 2011), které jsou asociované s proteinem Rab7 (Chavrier et al., 1990). Tyto pozdní endozomy jsou heterogenní a variabilní svojí velikostí i složením (Jin et al., 2022) a probíhá u nich konverze Rab5 pozitivních organel na Rab7 pozitivní organely (Rink et al.,

2005). LEs také získává membránový protein 1 spojený s lyzozomem (LAMP1), který je nepostradatelný pro plnění MHC I peptidy při zkřížené prezentaci (Jin et al., 2022).

Nedávné studie na fibroblastických buněčných liniích ukázaly, že otevřené MHC I (bez peptidu a/nebo $\beta 2m$) nemusí být pouze dopraveny k degradaci z pozdních endozomů do lyzozomu, ale naopak mohou být zachovány ve vnitřních vezikulech LEs s recyklační kapacitou, a po uvolnění do extracelulárního prostoru pomocí exozomů jsou recyklovány zpět na buněčný povrch (Obrázek č.5) (Mahmutefendić et al., 2013, Mahmutefendić et al., 2017).



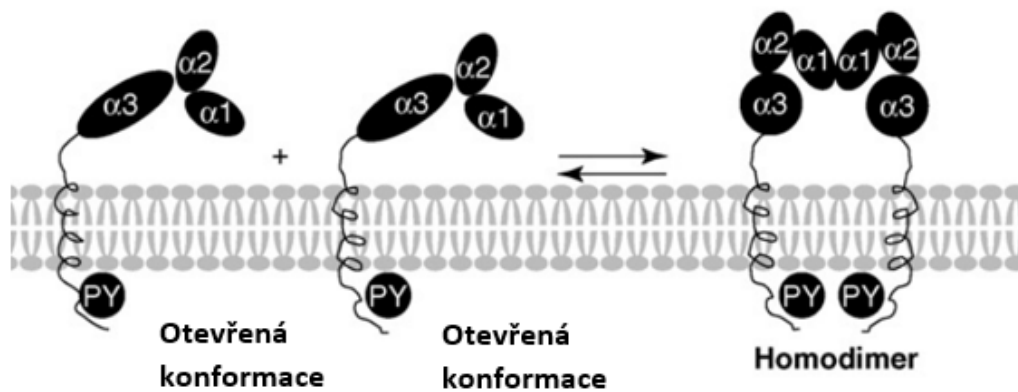
Obrázek č.5: Znázornění endozomální recyklace otevřených (MHC I bez peptidu) a uzavřených konformací MHC I. Přesný mechanismus vytváření a prezentování otevřených MHC I není zatím znám. DRM = detergent-rezistentní membrána; EE = časný endozom; JRC = juxtanukleární recyklační kompartment; LE = pozdní endozom; LY = lyzozom; RE = recyklační endozom; TEE = tubulární časný endozom; VEE = vezikulární časný endozom (převzato a upraveno z Mahmutefendić et al., 2013).

3 *cis*-asociace otevřených MHC I

Otevřené konformery MHC I mají několik imunologických a neimunologických funkcí, které vyplývají z jejich *cis*-asociací. Patří sem homotypické interakce volných těžkých řetězců MHC I a heterotypické interakce volných těžkých řetězců s řadou různých receptorů (Ruggiero et al., 2022).

3.1 Homotypické *cis*-asociace otevřených MHC I

Homotypické asociace otevřených MHC I molekul jsou přítomné u lidí (Chakrabarti et al., 1992) i u myši (Capps et al., 1993). Těžké řetězce MHC I, které disociovali od $\beta 2m$, mohou *cis*-interagovat samy se sebou (Obrázek č.6) pomocí kovalentních vazeb přes cysteinové zbytky lokalizované buď v cytoplazmatické či extracelulární doméně nebo pomocí vazeb nekovalentních. Takto mohou vznikat homodimery, trimery, tetramery či oligomery. U lidí dochází k tvorbě homodimerů u klasických i neklasických HLA I (Ruggiero et al., 2022).



Obrázek č.6: Schéma vzniku homodimerní struktury z otevřených konformací MHC I. PY = fosforylovaný tyrozin; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce (převzato a upraveno z Arosa et al., 2007).

3.1.1 Kovaletní asociace těžkých řetězců HLA I

Mezi nejlépe popsané homodimery klasických HLA I patří alely HLA-B27. Těžké řetězce HLA-B27 mohou u lymfoblastoidních buněk vytvářet stabilní homodimery na buněčném povrchu. Jejich vznik je podmíněn přítomností cysteinového zbytku na pozici 67 (Cys67) v $\alpha 1$ helixu extracelulární domény těžkého řetězce (Allen et al., 1999a; Bird et al., 2003). Mohou se vytvářet i intracelulárně v ER se zapojením cysteinových zbytků. V tomto případě vzniklé struktury nejsou prezentované na buněčný povrch, ale podléhají degradaci (Bird et al., 2003).

Homodimery HLA-B27 jsou schopné vázat peptidy (Allen et al., 1999a) a pro vznik PLC pravděpodobně nevyžadují zapojení tapazinu (Peh et al., 1998). Peptidy navázané na homodimerech HLA-B27 se mohou od peptidů prezentovaných uzavřenými konformery MHC I lišit ve složení či zdroji původu (Allen et al., 1999b). Může tak docházet k modulaci zánětlivé imunitní odpovědi, jelikož vůči těmto peptidům není vytvořená periferní a thymická tolerance imunitního systému. Mezi receptory, které rozpoznávají homodimery HLA-B27 patří

CD8 (Edwards et al., 2000), LILRB2, LILRA2, KIR3DL1 (Allen et al., 2001) a KIR3DL2. Rozpoznání homodimerů HLA-B27 pomocí výše zmíněných receptorů zapříčiňuje vznik zánětlivého onemocnění u pacientů se spondylartritidou (Kollnberger et al., 2002).

Některé alely HLA-B (včetně HLA-B27) obsahují v blízkosti konce cytoplazmatické domény cysteinový zbytek na pozici 325 (Cys325). Tvorbou disulfidických vazeb mezi nepárovými zbytky Cys325 je umožněna tvorba exozomálních dimerů. Takto vzniklé homodimery jsou plně sbalené, nejsou závislé na disulfidických vazbách mezi Cys67 a jejich imunologická funkce může spočívat v tom, že mohou sloužit jako nové ligandy pro imunitní receptory. Mezi další klasické HLA I schopné tvořit exozomální homodimery patří všechny alely HLA-A. Dimerizace těchto alel je umožněna přítomností cysteinového zbytku na pozici 339 nacházejícího se v cytoplazmatické doméně těžkého řetězce (Lynch et al., 2009). HLA-C alely také vytváří homodimery, a to na povrchu trofoblastu (Hiby et al., 2004).

Mezi neklasické HLA I vytvářející homodimery patří alely HLA-F (Goodridge et al., 2010) a HLA-G. Homodimery těžkých řetězců HLA-G se vyskytují na buněčném povrchu trofoblastu, jejichž existence je závislá na nepárových cysteinových zbytcích na pozici 42 ($\alpha 1$ podjednotka) a 147 ($\alpha 2$ podjednotka) v extracelulární doméně. Dimerizace těžkých řetězců HLA-G pomocí disulfidických vazeb probíhá pouze v extracelulární doméně, jelikož intracelulární doména je zkrácena a cysteinovými zbytky nedisponuje. Homodimery těžkých řetězců HLA-G jsou rozpoznávány inhibičními receptory LILRB2. Tyto receptory jsou prezentovány na makrofázích nacházejících se v děložní sliznici při těhotenství. Předpokládá se, že homodimery HLA-G5 zde mohou sloužit jako tolerogenní molekula imunitního systému matky vůči plodu, jelikož buňky exprimující LILRB2 jsou imunosupresivní. (Morales et al., 2007). HLA-G homodimery jsou rozeznávány i inhibičními receptory LILRB1, ale pouze když jsou v komplexu s uzavřenými konformery HLA-G (Gonen-Gross et al., 2003, Gonen-Gross et al., 2005). U pacientů s melanomem se na buněčném povrchu vyskytují HLA-G homodimery, které zvyšují inhibiční signály zprostředkované receptorem LILRB1 a tím inhibují cytotoxicitu NK buněk (Zilberman et al., 2012).

3.1.2 Nekovalentní asociace těžkých řetězců HLA I

HLA I molekuly mohou formovat oligomery, které vyžadují přítomnost nekovalentních asociací (Ruggiero et al., 2022).

V těchto strukturách dochází k tvoření klastrů na povrchu lymfoblastoidních buněk a v lipozomech, které jsou složené z otevřených a uzavřených konformací HLA-I (Chakrabarti et al., 1992). Klastry MHC I u T- a B-lymfomů interagují s receptory pro růstové faktory (interleukin (IL) 2 a 15). Tyto signalizační molekuly se podílejí na proliferaci a aktivaci T-buněk (Damjanovich et al., 2012; Vámosi et al., 2004). Výskyt klastrů koreluje se zvýšením lyze a funkce efektorových T-lymfocytů (Fooksman et al., 2006). Kromě růstových faktorů mohou oligomery HLA I tvořit multimolekulové klastry asociované s receptory CD8 společně s T-buněčným receptorem. Shlukováním receptorů CD8 nezbytných pro signalizaci T-buněk dochází k zvýšení účinnosti jejich stimulace (Gáspár et al., 2001).

Klastry byly nalezeny u pacientů s uveálním melanomem či kolorektálním karcinomem a u pacientů s Crohnovou chorobou. Díky své morfologii a struktuře mohou sloužit jako prognostický a diagnostický nástroj (Damjanovich et al., 2012). Volné těžké řetězce MHC I se mohou znovu, alespoň částečně, spojit s exogenně přidaným β 2m, který má vliv na výskyt klastrů. B-lymfocyty transformované virem Epstein-Barrové byly kultivovány s β 2m. Díky tomu došlo ke snížení výskytu shluků, což také zapříčinilo snížení aktivačních signálů T-lymfocytů (Bodnár et al., 2003).

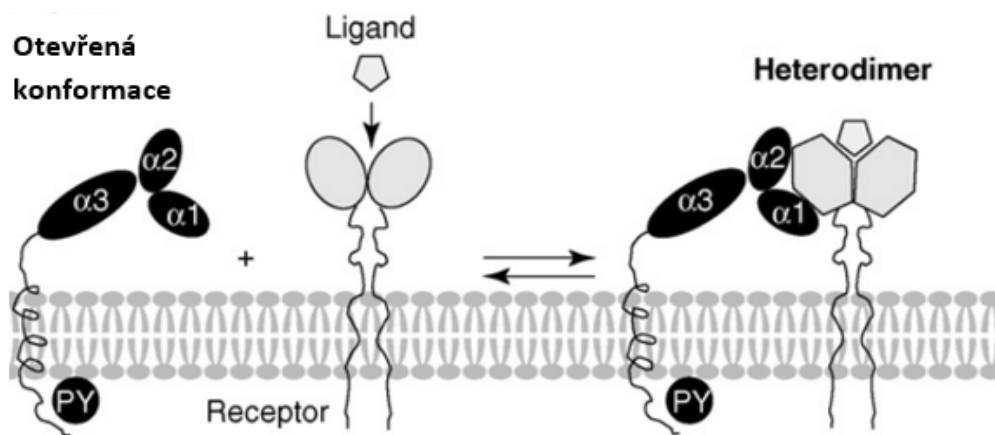
Oligomery mohou být složené pouze z těžkých řetězců HLA I. Tato homo-oligomerní struktura byla detekována u alely HLA-B27. Zvýšením exprese této alely u spondylartritidy (A Cauli et al., 2002) dochází k zvýšení výskytu disulfidicky vázaných oligomerů (Colbert et al., 2014). Receptor KIR3DL2 rozpoznává volné těžké řetězce homo-oligomerních HLA-B27. Receptor KIR3DL2 je lokalizován na povrchu pomocných T-buněk, kde vazbou na homo-oligomery HLA-B27 dochází k expresi IL 17, vlivem kterého dochází k zvýšené prozánětlivé reakci u pacientů se spondylartritidou (Bowness et al., 2011). Mezi další buňky obsahující tento receptor patří NK buňky. Vlivem vazby KIR3DL2 na ligand HLA-B27 dochází k snížení exprese cytokinu IL 6 a faktoru nádorové nekrózy α (TNF- α) NK buňkami. To má za následek stimulaci cytotoxické aktivity a expresi perforinu a granzymu B. Tento proces má vliv na patogenezi u spondylartritidy. (Cifaldi et al., 2015; Yu et al., 2022).

Shluky HLA-G mohou být tvořené z volných těžkých řetězců HLA-G ve formě homodimerů, homotrimerů a monomerů, nebo se mohou skládat z uzavřených a otevřených konformací HLA-G, kdy jsou rozeznávány receptorem LILR-1 s vyšší aviditou, a tím dochází k snížení

cytotoxické funkce NK buněk vlivem zvýšení inhibiční funkce LILR-1 (Gonen-Gross et al., 2003, Gonen-Gross et al., 2005).

3.2 Heterotypické *cis*-asociace otevřených MHC I

Otevřené konformery MHC I mohou u lidí a myši *cis*-interagovat s řadou receptorů přítomných na buněčném povrchu, a tak dávat vzniku heterotypickým strukturám (Obrázek č.7) (Phillips et al., 1986; Santos et al., 2004). Heterotypické interakce jsou možné díky $\alpha 1$ a $\alpha 2$ doménám fyzicky interagujícími s kryptickými motivy receptorů, které se odhalují vlivem aktivace receptorů po navázání ligandu. Vlivem těchto asociací dochází k regulaci buněčné signalizace (Bennett et al., 2000; Stagsted, 1998).

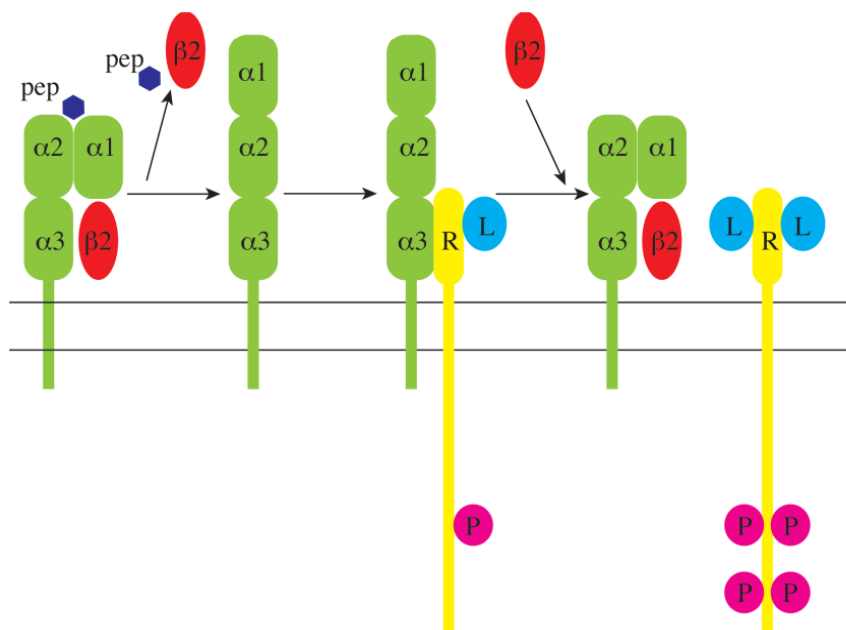


Obrázek č.7: Schéma vzniku heterodimerní struktury složené z otevřené konformace MHC I a receptoru (zde typická struktura receptoru pro růstový faktor). Vazba receptoru na volný těžký řetězec MHC I je umožněna změnou konformace receptoru po navázání ligandu. PY = fosforylovaný tyrozin; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce (převzato a upraveno z Arosa et al., 2007).

MHC I byly nalezeny ve strukturní asociaci s inzulínovým receptorem (IR) na povrchu hepatocytů. Vznik této vazby by mohl být podmíněn vytěsněním $\beta 2m$ inzulínovým receptorem. Bylo zjištěno, že snížením hustoty volných těžkých řetězců MHC I dochází ke snížení vazby inzulínu. Při *downregulaci* (snížení počtu receptorů) inzulínových receptorů se hustota MHC I zvýšila (Due et al., 1986; Phillips et al., 1986). Vazba IR na MHC I je umožněna změnou konformace IR po navázání inzulínu. Konformační změna vyvolává stimulaci tyrozin kinázové aktivity β podjednotky IR, pro kterou může HLA I sloužit jako substrát, jelikož jeho konzervovaný tyrozinový zbytek cytoplazmatické domény podléhá fosforylaci tyrozin kinázami (viz Kapitola 2). Díky tomu jsou HLA I zapojeny do hormonální signalizace (Fehlmann et al., 1985; Guild et al., 1983). MHC I mohou dále regulovat inzulínovou

signalizaci v mozku. Neurony se sníženou expresí MHC I jsou necitlivé vůči inzulinu na úrovni receptorů a vyskytují se u jedinců s Alzheimerovou chorobou, při stárnutí nebo u diabetes II. typu (Dixon-Salazar et al., 2014).

Mezi další receptory interagující s otevřenými MHC I konformery patří receptory pro epidermální růstové faktory (EGFR) (Schreiber et al., 1984). Vlivem navázání epidermálního růstového faktoru (EGF) na EGFR dochází ke konformační změně, která umožňuje interakci s volnými těžkými řetězci MHC I (Haigler et al., 1979). Tyto interakce byly nalezeny u meduloblastomů v buněčné linii DAOY, u kterých dochází k expresi otevřených MHC I. Volné těžké řetězce MHC I přispívají k modulaci signalizace. Roli zde hraje i volný $\beta 2m$, který je ve vysokých hladinách exprimovaný meduloblastomy (Pöschl et al., 2011) a váže se do otevřených konformací MHC I. Vlivem toho dochází ke zvýšení signalizace kinázy regulované mimobuněčným signálem 1/2 (ERK1/2), což zapříčiňuje vyšší migrační kapacitu nádorových buněk (Obrázek č.8) (Smith et al., 2009).



Obrázek č.8: Interakce volného těžkého řetězce MHC I a receptoru EGFR s ligandem EGF. Vlivem disociace $\beta 2m$ a peptidu dochází k vytvoření otevřeného MHC I konformeru. Ten poté interaguje s receptorem, na který je navázán ligand. Vlivem navázání volného $\beta 2m$ na otevřenou konformaci MHC I dochází k uvolnění receptoru. To vede k zvýšení fosforylace cytoplazmatické části receptoru, a tak i k zvýšení signalizace. L = ligand; P = fosforylace; pep = peptid; R = receptor; $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ = podjednotky těžkého řetězce; $\beta 2m$ = $\beta 2$ -mikroglobulin (převzato z Smith et al., 2009).

Volné těžké řetězce MHC I jsou společně s rozpustnými formami otevřených MHC I konformerů ve fyzické interakci s CD8 receptory na aktivovaných T-buňkách. Tyto interakce mohou být součástí *downregulace* či blokace CD8 receptorů. U aktivovaných CD4⁺ T-lymfocytů může docházet k regulaci jejich funkce vlivem navázání rozpustného CD8 α receptoru na volné těžké řetězce MHC I (Demaria et al., 1992; Santos et al., 2004). Na povrchu T-buněk dochází také k interakci otevřených MHC I konformerů s IL 2 růstovým faktorem T-lymfocytů (Harel-bellan et al., 1990).

U B-lymfocytů nakažených virem Epstein-Barrové dochází na povrchu k zvýšení exprese tetraspaninového membránového proteinu CD82, který může interagovat s volným těžkým řetězcem MHC I. Nakažené B-buňky jsou cílem pro NK buňky, které je rozpoznávají a likvidují. Vlivem interakce CD82 s otevřenými konformery MHC I však může docházet k ochraně těchto cílových buněk před cytotoxicitou NK buněk pomocí regulace negativních signálů dodávaných přes jejich inhibiční receptory (LagaudriPre-Gesbert et al., 1997).

4 Rozpustné MHC I a jejich funkce při úniku nádoru před imunitou

Rozpustné MHC I byly poprvé objeveny v lidském séru (sHLA I) v roce 1970 (Charlton et al., 1970; van Rood et al., 1970) a později i v myším séru (Callahan GN et al., 1975). Vznikají třemi možnými způsoby a dělí se na tři skupiny s odlišnou strukturou a molekulovou hmotností.

Prvním způsobem vzniku je uvolňování z buněčného povrchu. Takto vzniklé sHLA I obsahují transmembránovou i cytoplazmatickou doménu a jejich molekulová hmotnost je 44-46 kD. Mezi další možný vznik patří alternativní sestřih, který dává vzniku sHLA I bez transmembránové domény s molekulovou hmotností 39-41 kD. Posledním možným vznikem je proteolytické štěpení pomocí zinek dependentní metaloproteázy, kdy se vytváří sHLA I odvozené od otevřených MHC I neobsahujících transmembránovou doménu, cytoplazmatickou doménu ani β 2m. Jejich molekulová hmotnost je 35-37 kD (Adamashvili et al., 2005; Arosa et al., 2021).

Určité hladiny sHLA I jsou přítomné v séru u všech lidí (McDonald, 1992). Vyskytují se také v lidském potu (Zavazava et al., 1990), plazmě (Krangel, 1987), či v moči pacientů s onemocněním ledvin (Vincent et al., 1976). Zvýšená hladina sHLA I byla nalezena u několika

onemocnění, mezi které patří virové infekce (Alvarez-Cermeno et al., 1989; Puppo et al., 1994), nádorová onemocnění (například akutní myeloidní leukémie, rakovina prsu, či lymfom) (Albitar et al., 2007; Chen et al., 2010; Nocito et al., 1997) či autoimunitní choroby (například systémový lupus erythematoses) (Brescianl et al., 1998). U transplantací poukazuje zvýšená hladina sHLA I na rejekci štěpu (Zavazava et al., 1993). Při stárnutí se stabilita HLA I snižuje, a to může mít vliv na zvýšení hladin sHLA I ve stáří (Le Morvan et al., 2001).

Při imunologické interakci aktivovaných T-buněk s antigen prezentujícími buňkami dochází k uvolňování cytokinu interferonu gama ($IFN\gamma$) (Le et al., 1995). Vlivem tohoto uvolnění se u onkologických pacientů zvyšuje syntéza HLA I, což má za následek zvýšení koncentrace sHLA I v séru (Aulitzky et al., 1991). K tomuto pozorování došlo také po stimulaci mononukleárních buněk periferní krve a buněk izolovaných z mandlí, kdy se sHLA I uvolňovaly z lymfocytů (Brieva et al., 2008). Zvýšením hladin sHLA I dochází k regulaci aktivace cytotoxických T-buněk, jelikož jsou omezené pouze na membránové MHC I. To může být vedle známé strategie snížení exprese HLA I další cesta nádorového úniku (Hausmann et al., 1993; Le et al., 1995).

Nádorové buňky mohou vylučovat sHLA I s cílem vyhnout se likvidaci imunitním systémem. Uvolněné sHLA I totiž interagují s antigenem $CD8\alpha$ na povrchu NK buněk, který rozpoznává $\alpha3$ konstantní oblast HLA I, čímž indukuje vyloučení membránového proteinu Fas ligandu na NK buňkách, který vyvolá jejich programovanou smrt. Tento proces je závislý na přítomnosti vápenatých iontů (Spaggiari et al., 2002). U pacientů s ovariálním karcinomem byly v séru detekovány rozpustné HLA-G homodimery, které se mohou podílet na nádorovém úniku. Receptory LILRB1 a LILRB2 leukocytů asociovaných s nádory interagují s rozpustnou formou HLA-G homodimerů a vlivem toho dochází k inhibici protinádorových reakcí imunitního systému (Zilberman et al., 2012).

5 Závěr

Studium otevřených konformací je velice důležité, jelikož hrají významnou roli při několika onemocněních a stále ještě nejsou známe přesné mechanismy jejich vzniku a funkcí. Vlivem *cis*-interakcí vznikají heterodimery a homodimery volných těžkých řetězců MHC I, které se vyskytují i v rozpustné formě mimo buněčnou membránu.

Homodimery jsou spojené s imunologickou funkcí a vyskytují se u onemocnění ankylozující spondylartritidy či u pacientů s melanomem. Některé alely HLA I vytvářející homodimery mohou vázat inhibiční receptory LILRB1 a tím tlumí cytotoxicitu NK buněk. Homodimery vytváří klastry s uzavřenými MHC I konformery, vyskytují se u některých onemocněních, a interakcí s TCR, KIR3DL2 a NK buňkami zvyšují účinnost stimulace T-buněk, prozánětlivé imunitní odpovědi a cytotoxické aktivity NK buněk.

Heterodimery otevřených MHC I interagují s hormonovými a růstovými receptory a s některými molekulami. Jejich funkce se řadí mezi neimunologické. Vlivem asociace s inzulinovými a epidermálními růstovými receptory se podílejí na regulaci hormonální signalizace, což zapříčiňuje zvýšení migrační aktivity nádorových buněk. Heterodimery mohou také poskytovat ochranu proti cytotoxicitě NK buněk například u B-lymfocytů nakažených virem Epstein-Barrové.

Rozpustné formy otevřených MHC I hrají velkou roli při nádorovém úniku. Jejich zvýšená hladina byla detekována u několika virových infekcí, nádorových onemocněních, autoimunitních chorob a také po transplantacích a stárnutí. Zvýšením hladin dochází k regulaci cytotoxické aktivity T-buněk a NK buněk a k inhibici aktivace protinádorových imunitních reakcí vlivem interakce s receptory LILRB1 a LILRB2. Tyto interakce se významně podílí na úniku nádorů před imunitním systémem.

Přesto že je známo a objevováno stále více struktur a interakcí molekul a receptorů s otevřenými MHC I, jejich funkce nejsou dostatečně probádané a zcela jasné. Problém by mohl být v tom, že protilátky proti těmto strukturám jsou dobře známé a dostupné, ale neví se přesně jak struktury MHC I izolovat, a tak se těžko prokazují. Mnohé informace o funkcích proto nejsou dostupné a jsou staršího původu. Jejich biologickým funkcím by se ale mělo dostatečně porozumět, jelikož z mnoha studií vyplývá, že hrají významnou roli při řadě onemocnění včetně

autoimunitních chorob a nádorových onemocnění a podílejí se na mechanismu, kterým nádory unikají imunitnímu systému.

6 Seznam použité literatury

Sekundární citace označeny *

*Adamashvili, I., Kelley, R. E., Pressly, T., & McDonald, J. C. (2005). Soluble HLA: patterns of expression in normal subjects, autoimmune diseases, and transplant recipients. *Rheumatology international*, 25(7), 491–500.

Albitar, M., Johnson, M., Do, K. A., Day, A., Jilani, I., Pierce, S., Estey, E., Kantarjian, H., Keating, M., Verstovsek, S., O'brien, S., & Giles, F. J. (2007). Levels of soluble HLA-I and beta2M in patients with acute myeloid leukemia and advanced myelodysplastic syndrome: association with clinical behavior and outcome of induction therapy. *Leukemia*, 21(3), 480–488.

*Allen, R. L., Bowness, P., & McMichael, A. (1999). The role of HLA-B27 in spondyloarthritis. *Immunogenetics*, 50(3-4), 220–227.

Allen, R. L., O'Callaghan, C. A., McMichael, A. J., & Bowness, P. (1999). Cutting edge: HLA-B27 can form a novel beta 2-microglobulin-free heavy chain homodimer structure. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 162(9), 5045–5048.

Allen, R. L., Raine, T., Haude, A., Trowsdale, J., & Wilson, M. J. (2001). Leukocyte receptor complex-encoded immunomodulatory receptors show differing specificity for alternative HLA-B27 structures. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 167(10), 5543–5547.

Alvarez-Cermeño, J., Echevarría, J. M., Villar, L. M., Lázaro, I., Bootello, A., & González-Porque, P. (1989). Soluble class I antigens in serum and CSF of patients with varicella-zoster virus meningitis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 52(10), 1194–1196.

*Arosa, F. A., Esgalhado, A. J., Reste-Ferreira, D., & Cardoso, E. M. (2021). Open MHC Class I Conformers: A Look through the Looking Glass. *International journal of molecular sciences*, 22(18), 9738.

*Arosa, F. A., Santos, S. G., & Powis, S. J. (2007). Open conformers: the hidden face of MHC-I molecules. *Trends in immunology*, 28(3), 115–123.

Aulitzky, W. E., Grosse-Wilde, H., Westhoff, U., Tilg, H., Aulitzky, W., Gastl, G., Herold, M., & Huber, C. (1991). Enhanced serum levels of soluble HLA class I molecules are induced by treatment with recombinant interferon-gamma (IFN-gamma). *Clinical and experimental immunology*, 86(2), 236–239.

Bennett, M. J., Lebrón, J. A., & Bjorkman, P. J. (2000). Crystal structure of the hereditary haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature*, 403(6765), 46–53.

Berggård, I., & Bearn, A. G. (1968). Isolation and properties of a low molecular weight beta-2-globulin occurring in human biological fluids. *The Journal of biological chemistry*, 243(15), 4095–4103.

Bird, L. A., Peh, C. A., Kollnberger, S., Elliott, T., McMichael, A. J., & Bowness, P. (2003). Lymphoblastoid cells express HLA-B27 homodimers both intracellularly and at the cell surface following endosomal recycling. *European journal of immunology*, 33(3), 748–759.

- *Blum, J. S., Wearsch, P. A., & Cresswell, P. (2013). Pathways of antigen processing. *Annual review of immunology*, *31*, 443–473.
- Bodnár, A., Bacsó, Z., Jenei, A., Jovin, T. M., Edidin, M., Damjanovich, S., & Matkó, J. (2003). Class I HLA oligomerization at the surface of B cells is controlled by exogenous beta(2)-microglobulin: implications in activation of cytotoxic T lymphocytes. *International immunology*, *15*(3), 331–339.
- Bouvier, M., & Wiley, D. C. (1998). Structural characterization of a soluble and partially folded class I major histocompatibility heavy chain/beta 2m heterodimer. *Nature structural biology*, *5*(5), 377–384.
- Bowness, P., Ridley, A., Shaw, J., Chan, A. T., Wong-Baeza, I., Fleming, M., Cummings, F., McMichael, A., & Kollnberger, S. (2011). Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *186*(4), 2672–2680.
- *Braud, V. M., Allan, D. S., & McMichael, A. J. (1999). Functions of nonclassical MHC and non-MHC-encoded class I molecules. *Current opinion in immunology*, *11*(1), 100–108.
- Bresciani, A., Pirozzi, G., Spera, M., Lombardi, M. L., Ambrosone, L., Migliaresi, S., Ferrone, S., & Manzo, C. (1998). Increased level of serum HLA class I antigens in patients with systemic lupus in patients with systemic lupus erythematosus. Correlation with disease activity. *Tissue antigens*, *52*(1), 44–50.
- Brieva, J. A., Villar, L. M., Leoro, G., Alvarez-Cermeño, J. C., Roldán, E., & Gonzalez-Porqué, P. (1990). Soluble HLA class I antigen secretion by normal lymphocytes: relationship with cell activation and effect of interferon-gamma. *Clinical and experimental immunology*, *82*(2), 390–395.
- Callahan, G. N., Ferrone, S., Allison, J. P., & Reisfeld, R. A. (1975). Detection of H-2 antigens in serum. *Transplantation*, *20*(5), 431–433.
- Capps, G. G., Robinson, B. E., Lewis, K. D., & Zúñiga, M. C. (1993). In vivo dimeric association of class I MHC heavy chains. Possible relationship to class I MHC heavy chain-beta 2-microglobulin dissociation. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *151*(1), 159–169.
- Cardoso, E. M., Esgalhadó, A. J., Patrão, L., Santos, M., Neves, V. P., Martinez, J., Patto, M. A. V., Silva, H., & Arosa, F. A. (2018). Distinctive CD8+ T cell and MHC class I signatures in polycythemia vera patients. *Annals of hematology*, *97*(9), 1563–1575.
- Cauli, A., Dessole, G., Fiorillo, M. T., Vacca, A., Mameli, A., Bitti, P., Passiu, G., Sorrentino, R., & Mathieu, A. (2002). Increased level of HLA-B27 expression in ankylosing spondylitis patients compared with healthy HLA-B27-positive subjects: a possible further susceptibility factor for the development of disease. *Rheumatology (Oxford, England)*, *41*(12), 1375–1379.
- Chakrabarti, A., Matko, J., Rahman, N. A., Barisas, B. G., & Edidin, M. (1992). Self-association of class I major histocompatibility complex molecules in liposome and cell surface membranes. *Biochemistry*, *31*(31), 7182–7189.

- Charlton, R. K., & Zmijewski, C. M. (1970). Soluble HL-A7 antigen: localization in the beta-lipoprotein fraction of human serum. *Science (New York, N.Y.)*, *170*(3958), 636–637.
- Chavrier, P., Parton, R. G., Hauri, H. P., Simons, K., & Zerial, M. (1990). Localization of low molecular weight GTP binding proteins to exocytic and endocytic compartments. *Cell*, *62*(2), 317–329.
- Chen, H. X., Lin, A., Shen, C. J., Zhen, R., Chen, B. G., Zhang, X., Cao, F. L., Zhang, J. G., & Yan, W. H. (2010). Upregulation of human leukocyte antigen-G expression and its clinical significance in ductal breast cancer. *Human immunology*, *71*(9), 892–898.
- Cifaldi, L., Prencipe, G., Caiello, I., Bracaglia, C., Locatelli, F., De Benedetti, F., & Strippoli, R. (2015). Inhibition of natural killer cell cytotoxicity by interleukin-6: implications for the pathogenesis of macrophage activation syndrome. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, *67*(11), 3037–3046.
- Colbert, R. A., Tran, T. M., & Layh-Schmitt, G. (2014). HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. *Molecular immunology*, *57*(1), 44–51.
- *Damjanovich, L., Volkó, J., Forgács, A., Hohenberger, W., & Bene, L. (2012). Crohn's disease alters MHC-rafts in CD4+ T-cells. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*, *81*(2), 149–164.
- Demaria, S., Schwab, R., & Bushkin, Y. (1992). The origin and fate of beta 2m-free MHC class I molecules induced on activated T cells. *Cellular immunology*, *142*(1), 103–113.
- *Dixon-Salazar, T. J., Fourgeaud, L., Tyler, C. M., Poole, J. R., Park, J. J., & Boulanger, L. M. (2014). MHC class I limits hippocampal synapse density by inhibiting neuronal insulin receptor signaling. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *34*(35), 11844–11856.
- *Donaldson, J. G., & Williams, D. B. (2009). Intracellular assembly and trafficking of MHC class I molecules. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, *10*(12), 1745–1752.
- *Dong, G., Wearsch, P. A., Peaper, D. R., Cresswell, P., & Reinisch, K. M. (2009). Insights into MHC class I peptide loading from the structure of the tapasin-ERp57 thiol oxidoreductase heterodimer. *Immunity*, *30*(1), 21–32.
- Due, C., Simonsen, M., & Olsson, L. (1986). The major histocompatibility complex class I heavy chain as a structural subunit of the human cell membrane insulin receptor: implications for the range of biological functions of histocompatibility antigens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *83*(16), 6007–6011.
- *Edwards, J. C., Bowness, P., & Archer, J. R. (2000). Jekyll and Hyde: the transformation of HLA-B27. *Immunology today*, *21*(6), 256–260.
- *Fehlmann, M., Peyron, J. F., Samson, M., Van Obberghen, E., Brandenburg, D., & Brossette, N. (1985). Molecular association between major histocompatibility complex class I antigens and insulin receptors in mouse liver membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *82*(24), 8634–8637.
- Fooksman, D. R., Grönvall, G. K., Tang, Q., & Edidin, M. (2006). Clustering class I MHC modulates sensitivity of T cell recognition. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *176*(11), 6673–6680.

- *Gáspár, R., Jr, Bagossi, P., Bene, L., Matkó, J., Szöllosi, J., Tozsér, J., Fésüs, L., Waldmann, T. A., & Damjanovich, S. (2001). Clustering of class I HLA oligomers with CD8 and TCR: three-dimensional models based on fluorescence resonance energy transfer and crystallographic data. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *166*(8), 5078–5086.
- Gonen-Gross, T., Achdout, H., Arnon, T. I., Gazit, R., Stern, N., Horejsí, V., Goldman-Wohl, D., Yagel, S., & Mandelboim, O. (2005). The CD85J/leukocyte inhibitory receptor-1 distinguishes between conformed and beta 2-microglobulin-free HLA-G molecules. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *175*(8), 4866–4874.
- Gonen-Gross, T., Achdout, H., Gazit, R., Hanna, J., Mizrahi, S., Markel, G., Goldman-Wohl, D., Yagel, S., Horejsí, V., Levy, O., Baniyash, M., & Mandelboim, O. (2003). Complexes of HLA-G protein on the cell surface are important for leukocyte Ig-like receptor-1 function. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *171*(3), 1343–1351.
- Goodridge, J. P., Burian, A., Lee, N., & Geraghty, D. E. (2010). HLA-F complex without peptide binds to MHC class I protein in the open conformer form. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *184*(11), 6199–6208.
- Grey, H. M., Kubo, R. T., Colon, S. M., Poulik, M. D., Cresswell, P., Springer, T., Turner, M., & Strominger, J. L. (1973). The small subunit of HL-A antigens is beta 2-microglobulin. *The Journal of experimental medicine*, *138*(6), 1608–1612.
- Grommé, M., Uytdehaag, F. G., Janssen, H., Calafat, J., van Binnendijk, R. S., Kenter, M. J., Tulp, A., Verwoerd, D., & Neefjes, J. (1999). Recycling MHC class I molecules and endosomal peptide loading. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(18), 10326–10331.
- Guild, B. C., & Strominger, J. L. (1984). Human and murine class I MHC antigens share conserved serine 335, the site of HLA phosphorylation in vivo. *The Journal of biological chemistry*, *259*(14), 9235–9240.
- Guild, B. C., Erikson, R. L., & Strominger, J. L. (1983). HLA-A2 and HLA-B7 antigens are phosphorylated in vitro by rous sarcoma virus kinase (pp60v-src) at a tyrosine residue encoded in a highly conserved exon of the intracellular domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *80*(10), 2894–2898.
- Haigler, H. T., McKanna, J. A., & Cohen, S. (1979). Direct visualization of the binding and internalization of a ferritin conjugate of epidermal growth factor in human carcinoma cells A-431. *The Journal of cell biology*, *81*(2), 382–395.
- Harel-Bellan, A., Krief, P., Rimsky, L., Farrar, W. L., & Mishal, Z. (1990). Flow cytometry resonance energy transfer suggests an association between low-affinity interleukin 2 binding sites and HLA class I molecules. *The Biochemical journal*, *268*(1), 35–40.
- Hausmann, R., Zavazava, N., Steinmann, J., & Müller-Ruchholtz, W. (1993). Interaction of papain-digested HLA class I molecules with human alloreactive cytotoxic T lymphocytes (CTL). *Clinical and experimental immunology*, *91*(1), 183–188.
- *Hiby, S. E., Walker, J. J., O'shaughnessy, K. M., Redman, C. W., Carrington, M., Trowsdale, J., & Moffett, A. (2004). Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *The Journal of experimental medicine*, *200*(8), 957–965.

- Huet, C., Ash, J. F., & Singer, S. J. (1980). The antibody-induced clustering and endocytosis of HLA antigens on cultured human fibroblasts. *Cell*, *21*(2), 429–438.
- Hughes, E. A., Hammond, C., & Cresswell, P. (1997). Misfolded major histocompatibility complex class I heavy chains are translocated into the cytoplasm and degraded by the proteasome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *94*(5), 1896–1901.
- *Jin, Y., Deng, Z., & Zhu, T. (2022). Membrane protein trafficking in the anti-tumor immune response: work of endosomal-lysosomal system. *Cancer cell international*, *22*(1), 413.
- *King, A., Hiby, S. E., Verma, S., Burrows, T., Gardner, L., & Loke, Y. W. (1997). Uterine NK cells and trophoblast HLA class I molecules. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, *37*(6), 459–462.
- Kollnberger, S., Bird, L., Sun, M. Y., Retiere, C., Braud, V. M., McMichael, A., & Bowness, P. (2002). Cell-surface expression and immune receptor recognition of HLA-B27 homodimers. *Arthritis and rheumatism*, *46*(11), 2972–2982.
- *Kraegel M. S. (1987). Two forms of HLA class I molecules in human plasma. *Human immunology*, *20*(2), 155–165.
- Kucherlapati, R. S., Faber, H. E., Poulik, M. D., Ruddle, F. H., & Smithies, O. (1976). Assignment of the gene for beta-2-microglobulin to human chromosome 15. *Cytogenetics and cell genetics*, *16*(1-5), 178–180.
- Lagaudrière-Gesbert, C., Lebel-Binay, S., Wiertz, E., Ploegh, H. L., Fradelizi, D., & Conjeaud, H. (1997). The tetraspanin protein CD82 associates with both free HLA class I heavy chain and heterodimeric beta 2-microglobulin complexes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *158*(6), 2790–2797.
- Le Morvan, C., Cogné, M., & Drouet, M. (2001). An elevation in the concentration of HLA class I molecules in human blood due to ageing. *Mechanisms of ageing and development*, *122*(3), 335–340.
- *Le, J., & Hua, J. C. (1995). Production of soluble HLA-class-I molecules by IFN-gamma-induced colon-adenocarcinoma cells. *International journal of cancer*, *60*(4), 576–581.
- *Leone, P., Shin, E. C., Perosa, F., Vacca, A., Dammacco, F., & Racanelli, V. (2013). MHC class I antigen processing and presenting machinery: organization, function, and defects in tumor cells. *Journal of the National Cancer Institute*, *105*(16), 1172–1187.
- Lizée, G., Basha, G., Tiong, J., Julien, J. P., Tian, M., Biron, K. E., & Jefferies, W. A. (2003). Control of dendritic cell cross-presentation by the major histocompatibility complex class I cytoplasmic domain. *Nature immunology*, *4*(11), 1065–1073.
- Lynch, S., Santos, S. G., Campbell, E. C., Nimmo, A. M., Botting, C., Prescott, A., Antoniou, A. N., & Powis, S. J. (2009). Novel MHC class I structures on exosomes. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *183*(3), 1884–1891.
- MacAry, P. A., Lindsay, M., Scott, M. A., Craig, J. I., Luzio, J. P., & Lehner, P. J. (2001). Mobilization of MHC class I molecules from late endosomes to the cell surface following activation of CD34-derived human Langerhans cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(7), 3982–3987.

- Mahmutefendić, H., Blagojević Zagorac, G., Grabušić, K., Karleuša, L., Maćešić, S., Momburg, F., & Lučin, P. (2017). Late Endosomal Recycling of Open MHC-I Conformers. *Journal of cellular physiology*, 232(4), 872–887.
- Mahmutefendić, H., Blagojević, G., Tomaš, M. I., Kučić, N., & Lučin, P. (2011). Segregation of open Major Histocompatibility Class I conformers at the plasma membrane and during endosomal trafficking reveals conformation-based sorting in the endosomal system. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 43(4), 504–515.
- *Mahmutefendić, H., Zagorac, G. B., Tomaš, M. I., Groettrup, M., Momburg, F., & Lučin, P. (2013). Endosomal trafficking of open Major Histocompatibility Class I conformers--implications for presentation of endocytosed antigens. *Molecular immunology*, 55(2), 149–152.
- McCluskey, J., Boyd, L. F., Maloy, W. L., Coligan, J. E., & Margulies, D. H. (1986). Alternative processing of H-2Dd pre-mRNAs results in membrane expression of differentially phosphorylated protein products. *The EMBO journal*, 5(10), 2477–2483.
- McDonald, J. C., Gelder, F. B., Aultman, D. F., Landreneau, M. D., McMillan, R. W., Singh, I., Sorrells, D., & Liou, W. H. (1992). HLA in human serum--quantitation of class I by enzyme immunoassay. *Transplantation*, 53(2), 445–449.
- *Milner, C. M., & Campbell, R. D. (2001). Genetic organization of the human MHC class III region. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 6, D914–D926.
- *Morales, P. J., Pace, J. L., Platt, J. S., Langat, D. K., & Hunt, J. S. (2007). Synthesis of beta(2)-microglobulin-free, disulphide-linked HLA-G5 homodimers in human placental villous cytotrophoblast cells. *Immunology*, 122(2), 179–188.
- Naslavsky, N., Weigert, R., & Donaldson, J. G. (2003). Convergence of non-clathrin- and clathrin-derived endosomes involves Arf6 inactivation and changes in phosphoinositides. *Molecular biology of the cell*, 14(2), 417–431.
- *Natarajan, K., Li, H., Mariuzza, R. A., & Margulies, D. H. (1999). MHC class I molecules, structure and function. *Reviews in immunogenetics*, 1(1), 32–46.
- Nocito, M., Montalbán, C., González-Porque, P., & Villar, L. M. (1997). Increased soluble serum HLA class I antigens in patients with lymphoma. *Human immunology*, 58(2), 106–111.
- Parham, P., Lomen, C. E., Lawlor, D. A., Ways, J. P., Holmes, N., Coppin, H. L., Salter, R. D., Wan, A. M., & Ennis, P. D. (1988). Nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(11), 4005–4009.
- Peh, C. A., Burrows, S. R., Barnden, M., Khanna, R., Cresswell, P., Moss, D. J., & McCluskey, J. (1998). HLA-B27-restricted antigen presentation in the absence of tapasin reveals polymorphism in mechanisms of HLA class I peptide loading. *Immunity*, 8(5), 531–542.
- Phillips, M. L., Moule, M. L., Delovitch, T. L., & Yip, C. C. (1986). Class I histocompatibility antigens and insulin receptors: evidence for interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(10), 3474–3478.

- Pober, J. S., Guild, B. C., & Strominger, J. L. (1978). Phosphorylation in vivo and in vitro of human histocompatibility antigens (HLA-A and HLA-B) in the carboxy-terminal intracellular domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 75(12), 6002–6006.
- Pöschl, J., Lorenz, A., Hartmann, W., von Bueren, A. O., Kool, M., Li, S., Peraud, A., Tonn, J. C., Herms, J., Xiang, M., Rutkowski, S., Kretzschmar, H. A., & Schüller, U. (2011). Expression of BARHL1 in medulloblastoma is associated with prolonged survival in mice and humans. *Oncogene*, 30(47), 4721–4730.
- Puppo, F., Brenci, S., Lanza, L., Bosco, O., Imro, M. A., Scudeletti, M., Indiveri, F., & Ferrone, S. (1994). Increased level of serum HLA class I antigens in HIV infection. Correlation with disease progression. *Human immunology*, 40(4), 259–266.
- *Raine, T., Brown, D., Bowness, P., Hill Gaston, J. S., Moffett, A., Trowsdale, J., & Allen, R. L. (2006). Consistent patterns of expression of HLA class I free heavy chains in healthy individuals and raised expression in spondyloarthritis patients point to physiological and pathological roles. *Rheumatology (Oxford, England)*, 45(11), 1338–1344.
- Rink, J., Ghigo, E., Kalaidzidis, Y., & Zerial, M. (2005). Rab conversion as a mechanism of progression from early to late endosomes. *Cell*, 122(5), 735–749.
- Rothbard, J. B., Hopp, T. P., Edelman, G. M., & Cunningham, B. A. (1980). Structure of the heavy chain of the H-2Kk histocompatibility antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(7), 4239–4243.
- *Ruggiero, F. M., & Springer, S. (2022). Homotypic and heterotypic *in cis* associations of MHC class I molecules at the cell surface. *Current research in immunology*, 3, 85–99.
- Santos, S. G., Powis, S. J., & Arosa, F. A. (2004). Misfolding of major histocompatibility complex class I molecules in activated T cells allows cis-interactions with receptors and signaling molecules and is associated with tyrosine phosphorylation. *The Journal of biological chemistry*, 279(51), 53062–53070.
- Schnabl, E., Stockinger, H., Majdic, O., Gaugitsch, H., Lindley, I. J., Maurer, D., Hajek-Rosenmayr, A., & Knapp, W. (1990). Activated human T lymphocytes express MHC class I heavy chains not associated with beta 2-microglobulin. *The Journal of experimental medicine*, 171(5), 1431–1442.
- Schreiber, A. B., Schlessinger, J., & Edidin, M. (1984). Interaction between major histocompatibility complex antigens and epidermal growth factor receptors on human cells. *The Journal of cell biology*, 98(2), 725–731.
- Smith, C., Santi, M., Rajan, B., Rushing, E. J., Choi, M. R., Rood, B. R., Cornelison, R., MacDonald, T. J., & Vukmanovic, S. (2009). A novel role of HLA class I in the pathology of medulloblastoma. *Journal of translational medicine*, 7, 59.
- Smith, M. H., & Barber, B. H. (1990). The conformational flexibility of class I H-2 molecules as revealed by anti-peptide antibodies specific for intracytoplasmic determinants: differential reactivity of beta 2-microglobulin "bound" and "free" H-2Kb heavy chains. *Molecular immunology*, 27(2), 169–180.

- *Solberg, O. D., Mack, S. J., Lancaster, A. K., Single, R. M., Tsai, Y., Sanchez-Mazas, A., & Thomson, G. (2008). Balancing selection and heterogeneity across the classical human leukocyte antigen loci: a meta-analytic review of 497 population studies. *Human immunology*, *69*(7), 443–464.
- Spaggiari, G. M., Contini, P., Dondero, A., Carosio, R., Puppo, F., Indiveri, F., Zocchi, M. R., & Poggi, A. (2002). Soluble HLA class I induces NK cell apoptosis upon the engagement of killer-activating HLA class I receptors through FasL-Fas interaction. *Blood*, *100*(12), 4098–4107.
- *Stagsted J. (1998). Journey beyond immunology. Regulation of receptor internalization by major histocompatibility complex class I (MHC-I) and effect of peptides derived from MHC-I. *APMIS. Supplementum*, *85*, 1–40.
- *Stroynowski I. (1990). Molecules related to class-I major histocompatibility complex antigens. *Annual review of immunology*, *8*, 501–530.
- Thor, G., Sepulveda, H., Chada, S., & Dutton, R. W. (1993). Monoclonal antibody that distinguishes between a phosphorylated, beta 2-microglobulin-associated, and a free, nonphosphorylated, chain of MHC class I. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *151*(1), 211–224.
- Tsai, W. C., Chen, C. J., Yen, J. H., Ou, T. T., Tsai, J. J., Liu, C. S., & Liu, H. W. (2002). Free HLA class I heavy chain-carrying monocytes--a potential role in the pathogenesis of spondyloarthropathies. *The Journal of rheumatology*, *29*(5), 966–972.
- Vámosi, G., Bodnár, A., Vereb, G., Jenei, A., Goldman, C. K., Langowski, J., Tóth, K., Mátyus, L., Szöllösi, J., Waldmann, T. A., & Damjanovich, S. (2004). IL-2 and IL-15 receptor alpha-subunits are coexpressed in a supramolecular receptor cluster in lipid rafts of T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(30), 11082–11087.
- van Rood, J. J., van Leeuwen, A., & van Santen, M. C. (1970). Anti HL-A2 inhibitor in normal human serum. *Nature*, *226*(5243), 366–367.
- Vincent, C., Revillard J-P, & Betuel, H. (1976). Purification of HLA antigens from urine. *Transplantation*, *22*(5), 500–507.
- *Wieczorek, M., Abualrous, E. T., Sticht, J., Álvaro-Benito, M., Stolzenberg, S., Noé, F., & Freund, C. (2017). Major Histocompatibility Complex (MHC) Class I and MHC Class II Proteins: Conformational Plasticity in Antigen Presentation. *Frontiers in immunology*, *8*, 292.
- Yu, H. C., Huang, K. Y., Lu, M. C., Huang Tseng, H. Y., Liu, S. Q., Lai, N. S., & Huang, H. B. (2022). HLA-B*27 Heavy Chain Homo-Oligomers Promote the Cytotoxicity of NK Cells via Activation of PI3K/AKT Signaling. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, *58*(10), 1411.
- Zavazava, N., Böttcher, H., & Ruchholtz, W. M. (1993). Soluble MHC class I antigens (sHLA) and anti-HLA antibodies in heart and kidney allograft recipients. *Tissue antigens*, *42*(1), 20–26.
- Zavazava, N., Westphal, E., & Müller-Ruchholtz, W. (1990). Characterization of soluble HLA molecules in sweat and quantitative HLA differences in serum of healthy individuals. *Journal of immunogenetics*, *17*(6), 387–394.

*Zhang, Y., & Williams, D. B. (2006). Assembly of MHC class I molecules within the endoplasmic reticulum. *Immunologic research*, 35(1-2), 151–162.

*Zilberman, S., Schenowitz, C., Agaugué, S., Benoît, F., Riteau, B., Rouzier, R., Carosella, E. D., Rouas-Freiss, N., & Menier, C. (2012). HLA-G1 and HLA-G5 active dimers are present in malignant cells and effusions: the influence of the tumor microenvironment. *European journal of immunology*, 42(6), 1599–1608.

Zuniga, M. C., Malissen, B., McMillan, M., Brayton, P. R., Clark, S. S., Forman, J., & Hood, L. (1983). Expression and function of transplantation antigens with altered or deleted cytoplasmic domains. *Cell*, 34(2), 535–544.