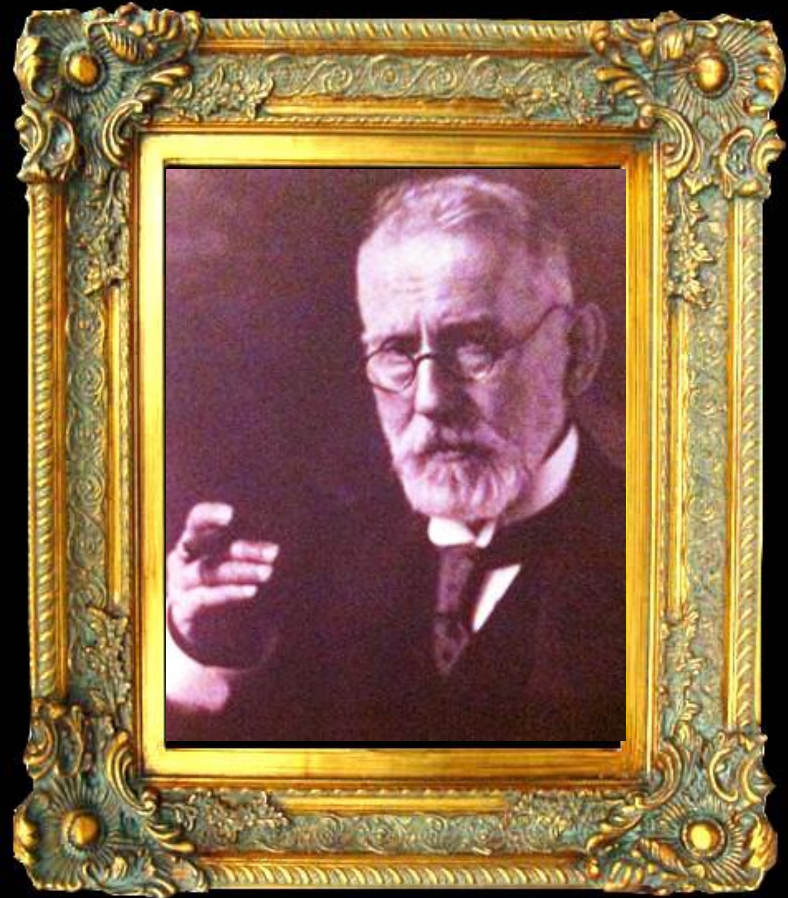




VII. KHÁNG THỂ

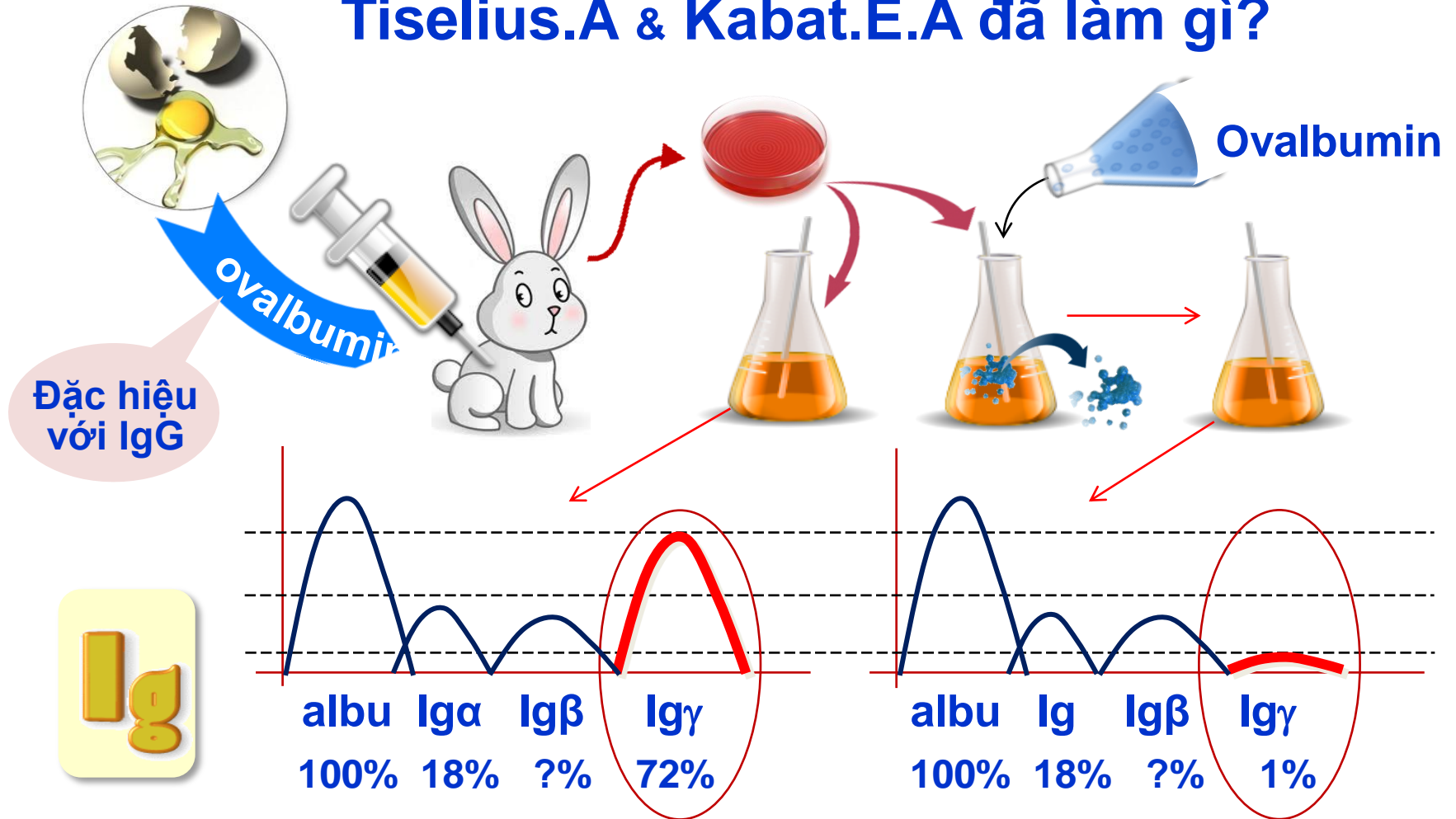
(ANTIBODY-Bb/Ig-Immunoglobuline)

MAGIC BULLET



Paul Ehrlich (1854 - 1915)
Nobel 1908

Tiselius.A & Kabat.E.A đã làm gì?

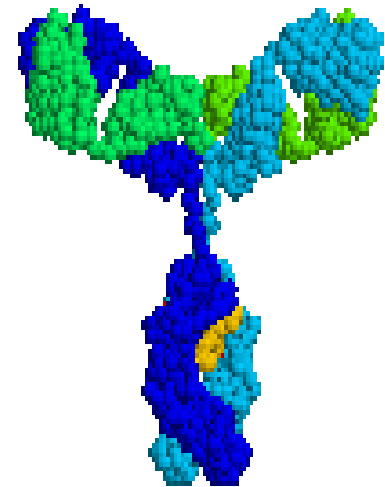


Đã có một protein MD...lần đầu tiên có tên

“Kháng thể là các globulin có trong serum người và ĐV, chúng có khả năng liên kết với chính KN kích thích sinh ra nó”

HỘI NGHỊ QT (OMS 1984)

**“Globulin MD là tất cả các protein serum và nước tiểu có tính KN-
Ký hiệu chung: Ig”**




ĐẶC ĐIỂM PHÂN TỬ KHÁNG THỂ

- ▶ Trọng lượng ~150.000 Dals
- ▶ Disulfua tạo cấu trúc bậc
- ▶ Dễ biến tính với pH, bền nhiệt
- ▶ Không tạo phản ứng hóa học, và không chuyển hóa
- ▶ Linh hoạt thay đổi cấu trúc không gian - không thay đổi trình tự a.a
- ▶ Không có hoạt tính vĩnh viễn

- ◆ Là protein chức năng nhưng gen không di truyền
- ◆ Có thể biểu hiện như một KN
- ◆ Mỗi vùng phân tử có hoạt tính riêng
- ◆ Ít bất hoạt bởi sản phẩm khác của TB
- ◆ Khả năng di chuyển, trú ngụ tại các mô
- ◆ Tạo liên kết với KN không cần năng lượng, không cần enzyme xúc tác



**Enzyme
có là Ab ?**



**Ab có là
enzyme ?**

SỰ KHÁC BIỆT CƠ BẢN

KHÁNG THỂ

Liên kết thuận
nghịch với KN

Không có khả
năng hình thành
các liên kết
cộng hóa trị

ENZYME

Xúc tác cho
các phản ứng

Có khả năng
làm thay đổi các
liên kết hóa học
của cơ chất

NGUỒN GỐC

Được sản xuất duy nhất từ lympho

Được sản xuất từ tất cả các tế bào

CẤU TRÚC

Cấu trúc chung giống nhau, chỉ khác ở vị trí kết hợp

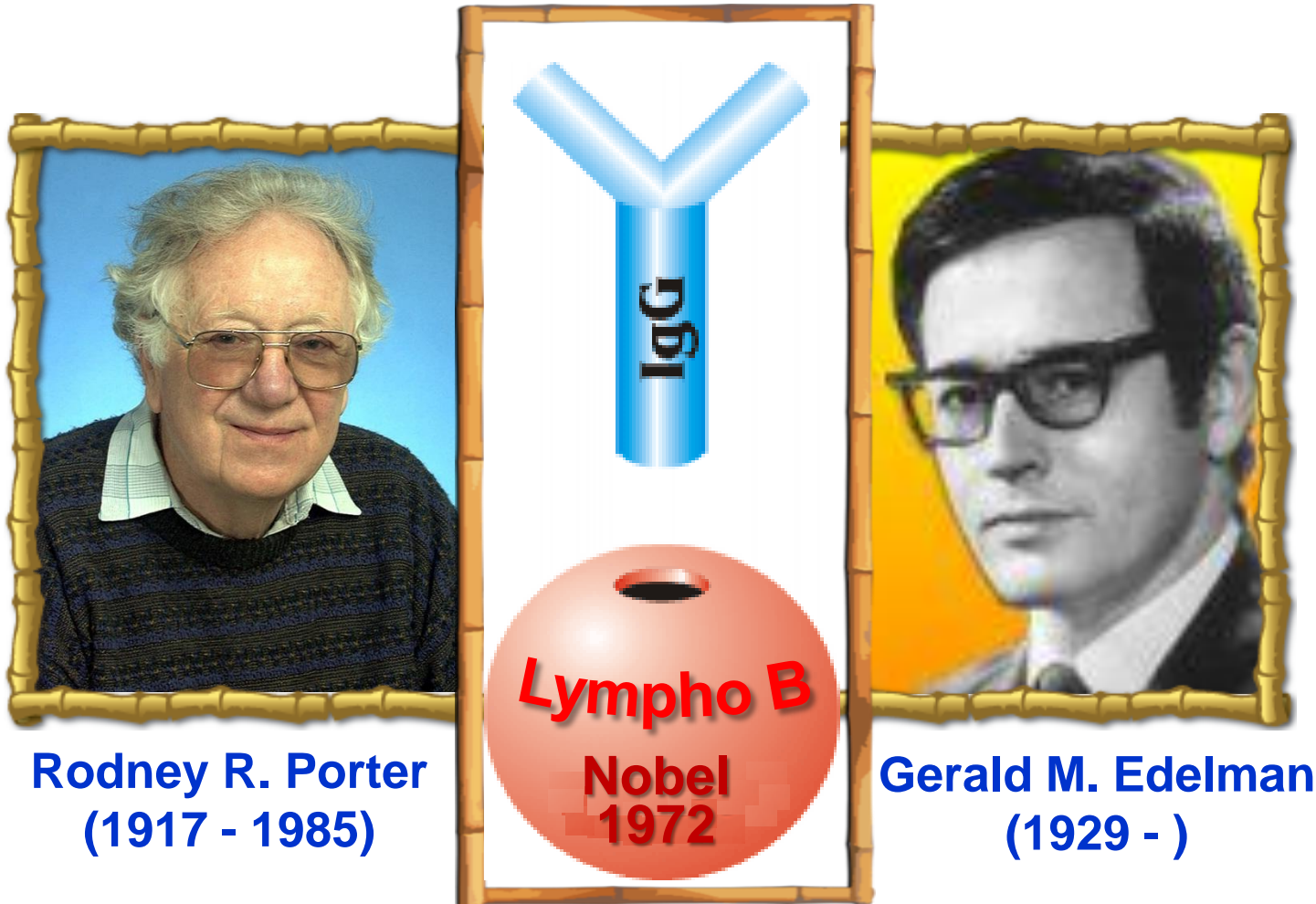
Rất thay đổi (đặc biệt là các enzym của carbohydrat và polypeptid)

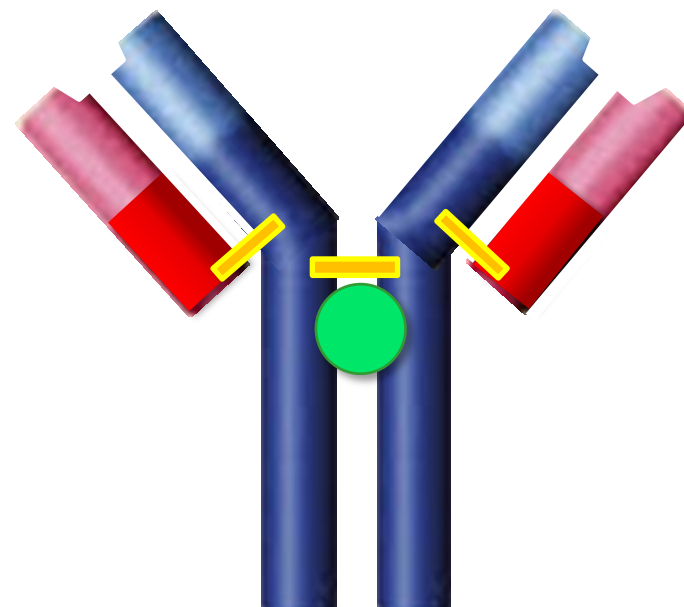
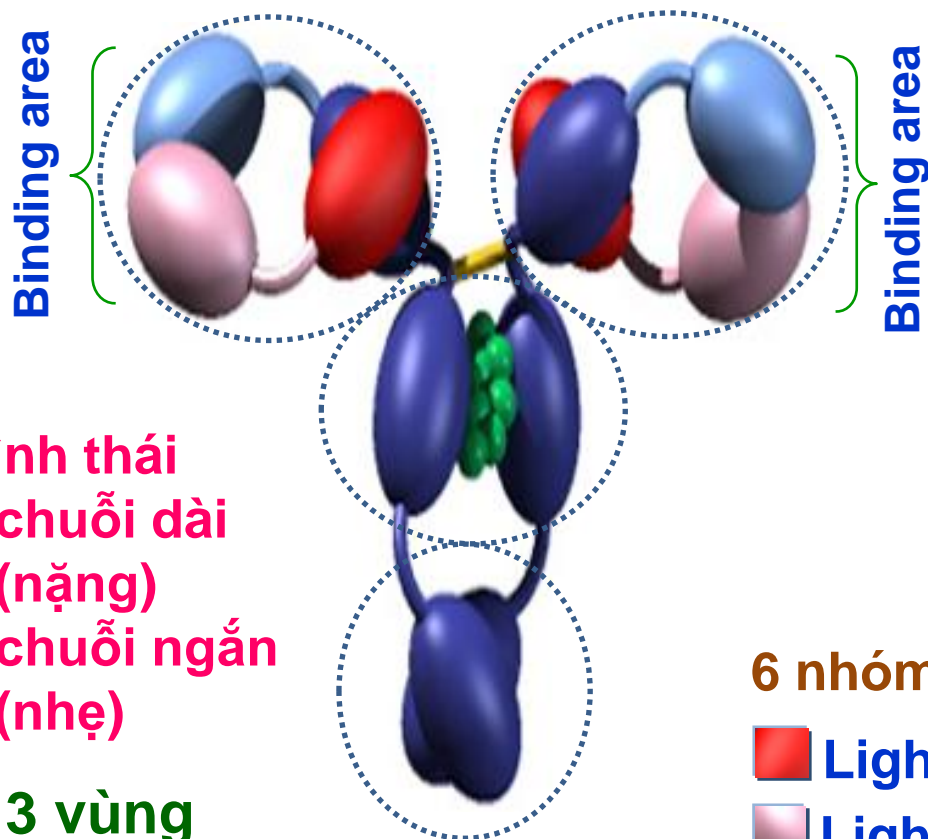
GENE

1 polypeptid có thể có 2 gen riêng biệt







Một gen một polypeptid

“DIỆN MẠO” CỦA IMMUNOGLOBULIN?

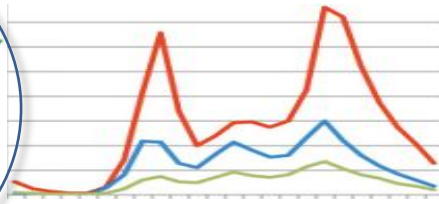
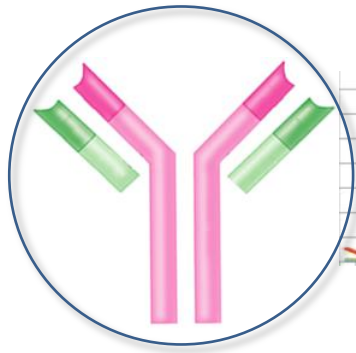




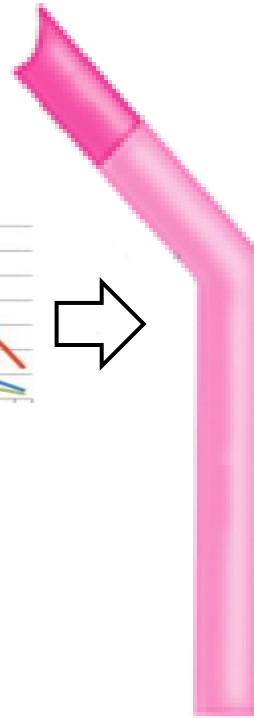
6 nhóm cấu trúc sinh hóa cơ bản

-  Light chain (constant)
-  Light chain (variable)
-  Heavy chain (constant)
-  Heavy chain (variable)
-  Carbohydrate
-  Disulfide bond

PHÂN LỚP / DANH PHÁP



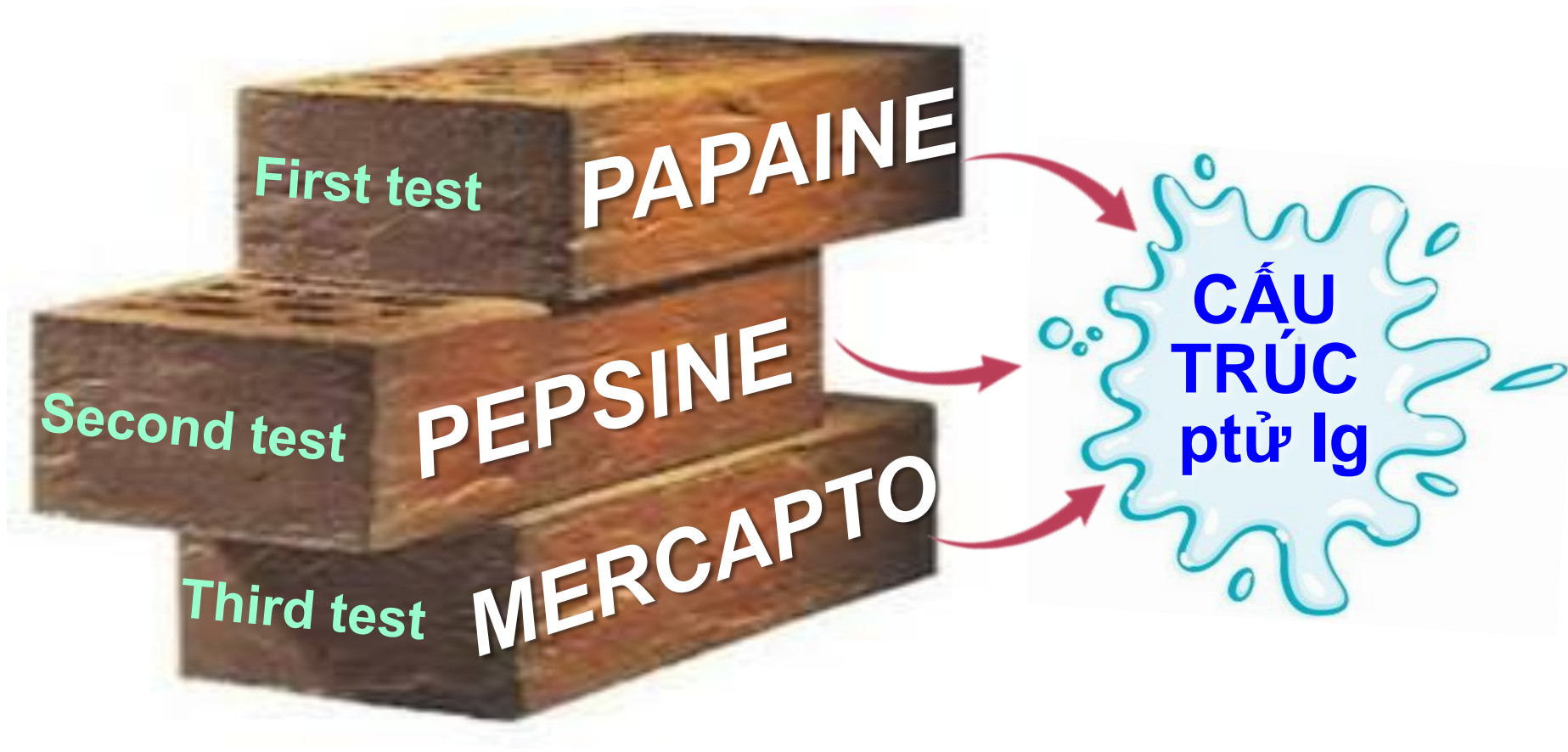
Kappa
Lambda



Lớp → Dưới lớp...

- IgG** Gamma →
- IgA** Alpha →
- IgD** Detha →
- IgM** Muy →
- IgE** Epsinol →

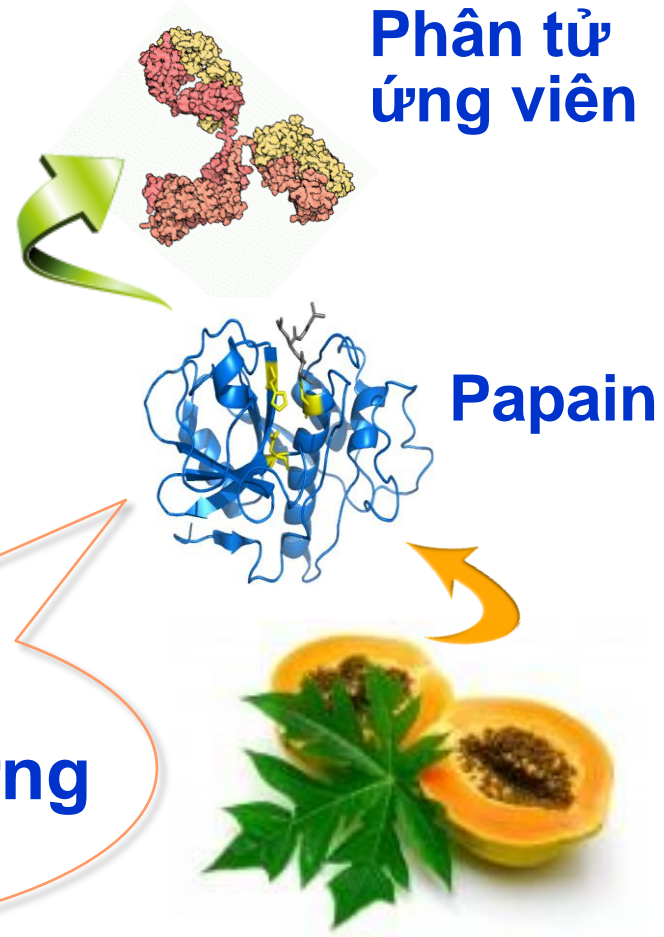
BA THỬ NGHIỆM



TN 1: SỬ DỤNG PAPAIN

- Endoprotease
- Dễ bị kìm hãm
- Dễ bị biến tính
- Sản phẩm cắt: peptid và a.a
- 25°C, pH~6,2

Không mạnh
Không định hướng
Không bền



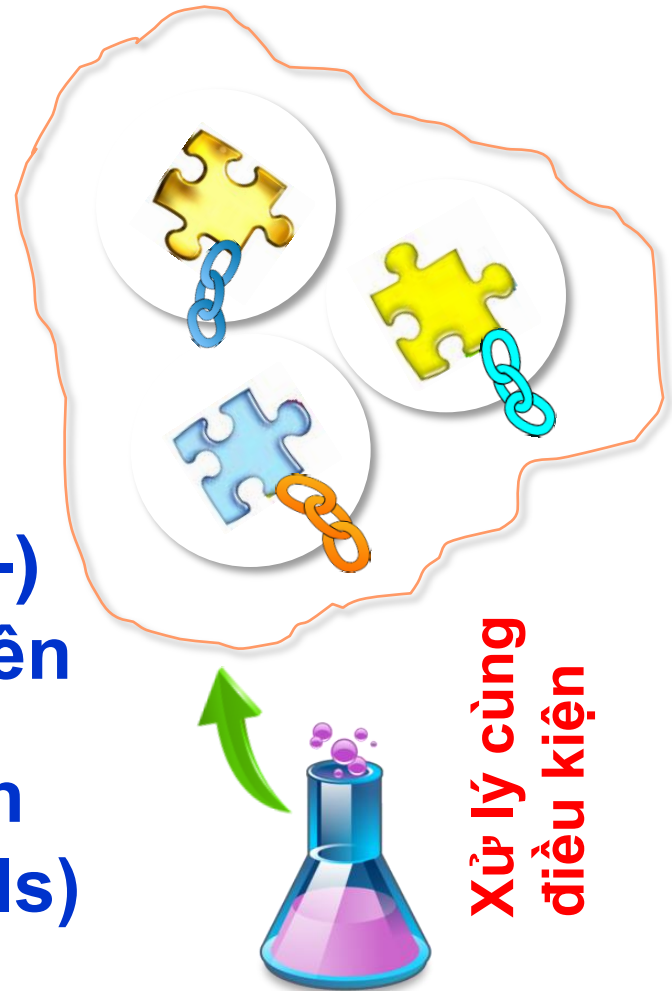
KẾT QUẢ CỦA TN 1

Phân tử ứng viên bị cắt
thành 3 mảnh (fragment)

Các cầu nối disulfua (-S-S-)
trong mỗi mảnh còn nguyên

Phân tử lượng của 3 mảnh
gần bằng nhau (50.000 Dals)

Độ bền nhiệt và pH tương đương



Xử lý cùng
điều kiện



- Các đầu COO^- & NH^+ của chuỗi peptid không biến đổi
- Xử lý với dung môi chứa Ag:
Có 2 mảnh kết dính bắt Ag được gọi là Fab1 và Fab2 (Fragment antigen binding)
- 2 mảnh Fab1 và Fab2 có cấu trúc hóa học như nhau
- Mảnh không bắt Ag lắng, kết tinh gọi là Fc (Fragment crystalizable)

NH⁺

Fab1

PAPAINE

Fab2

NH⁺

**Sự phỏng đoán vị trí bị cắt
của phân tử ứng viên**

PAPAINE

Fc

COO⁻

PAPAINE

**Fab: Fragment antigen binding
Fc: Fragment crystallizable**

NHẬN ĐỊNH

- ★ Phân tử IgG ứng viên phải cấu trúc nhánh với 3 đầu
- ★ Các đầu N & C của 3 nhánh (đưa ra ngoài) còn: phân tử bị cắt từ trong ra
- ★ Trọng lượng pt 3 mảnh tương đương: papaine cắt tại vị trí trung tâm của IgG
- ★ Do đặc điểm của papain, vị trí yếu nhất của phân tử phải là khu vực trung tâm
- ★ Còn cầu nối disulfua: trên mỗi mảnh sẽ còn cấu trúc không gian trên bậc 1

❖ Lượng KN bị bắt không đổi trước và sau khi phân tử ứng viên bị cắt

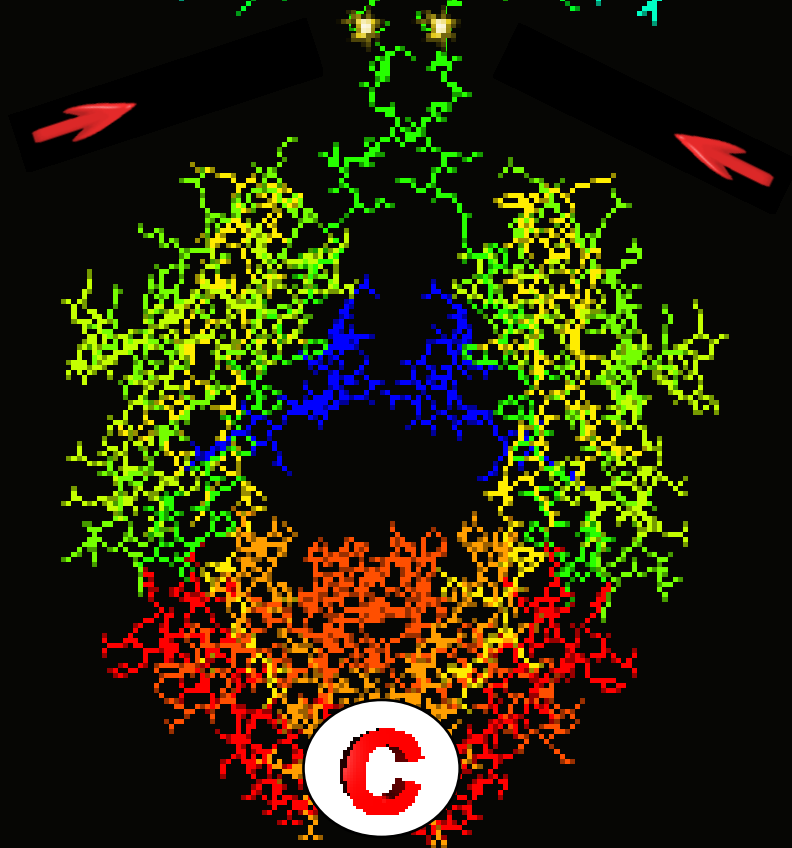
↙ Cấu trúc hóa học dùng để bắt KN không bị ảnh hưởng

↘ Đặc tính bắt KN tương ứng của Ig là bản năng (dù phân tử bị biến đổi)

❖ VỊ TRÍ NÀO CỦA PTỬ BẮT KN ?

KN chỉ có thể bị kết dính tại các cấu trúc có điện tử tự do (tức 2 đầu N&C)

Mảnh Fc không bắt KN, chứng tỏ đầu C không liên quan tới KN (mặc dù mảnh Fab vẫn có đầu C)

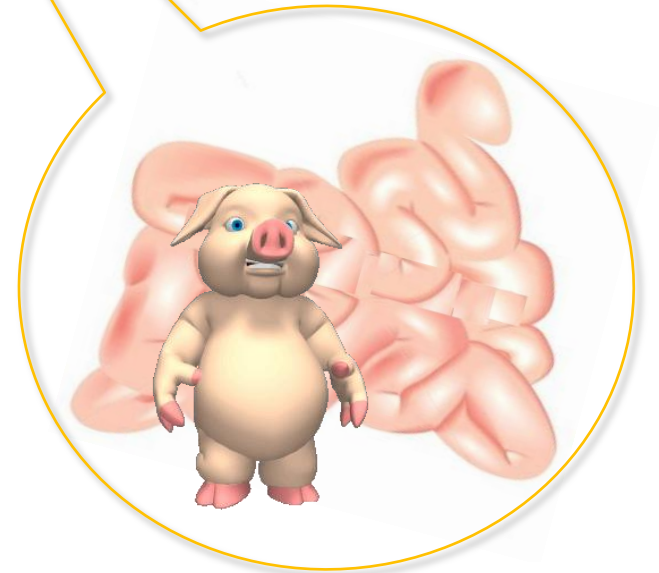
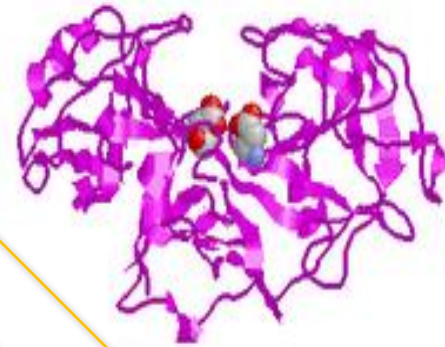


KẾT LUẬN
KN BỊ BẮT
BỞI 2 ĐẦU
N TỰ DO

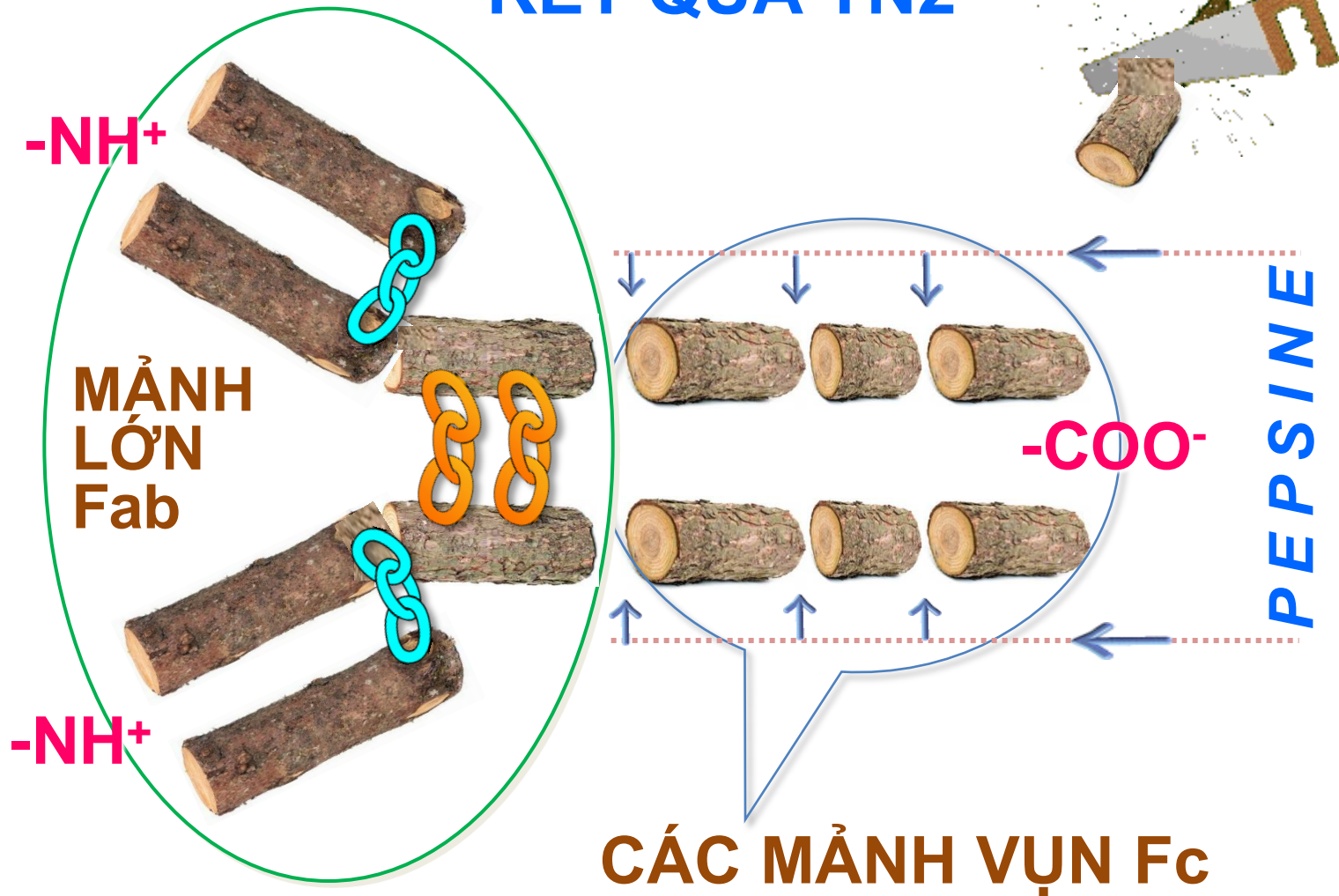
KHÁI NIỆM
PARATOPE

TN 2: PEPSINE

- **Endopeptidaza**
- **Tấn công hầu hết protein để tạo các peptid ngắn**
- **Có độ pH acid (~2) (TN sử dụng acid điều phối hoạt tính)**
- **Luôn cắt các chuỗi ptử có định hướng từ đầu C trở vào**



KẾT QUẢ TN2



Nhiều mảnh vụn (lắng tủa, phân hủy khi xử lý) và một mảnh lớn (bền, huyền phù)

MẢNH LỚN (Fab)



Có khối lượng ptử ~ 2 mảnh nhỏ của TN 1 cộng lại (~100.000Dals)



Không có đầu COO^- tự do



Có 2 vị trí Nitơ tự do (pH không đổi)



Bắt lượng KN ~ với ptử ứng viên bình thường (chưa phân cắt)



Các cầu nối disulfur vẫn tồn tại

NHẬN ĐỊNH

Fab CHÍNH LÀ Fa + Fb (CỦA TN1)

- Pt khối tương đương
- Bền acid (còn cấu trúc bậc)
- Bắt tương đương 2 KN

CẤU TRÚC NH⁺ NÀO BẮT KN ?

- Các amin của peptid và a.a khác không bắt kháng nguyên
- Vị trí amin bắt KN phải chuyên biệt
- Phải có cấu trúc bậc cao

VÀI THẮC MẮC ?

TN1:

- Papain cắt vị trí giữa ?
- Các Fab không tựa ?

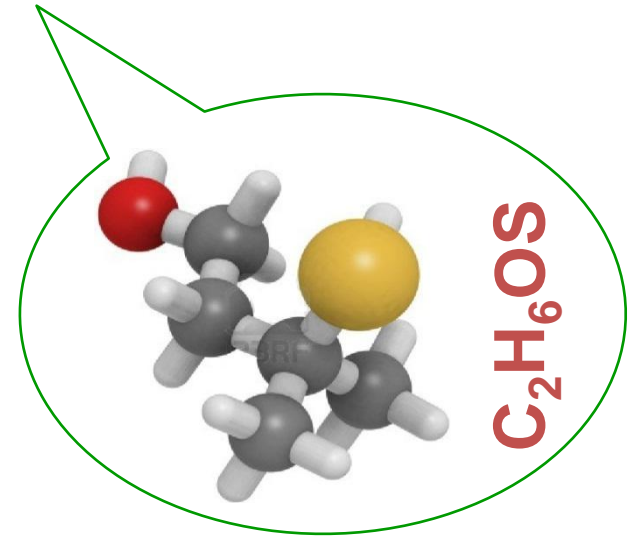
TN2:

- Còn đầu COO- ?
- Pepsin không cắt tiếp ?



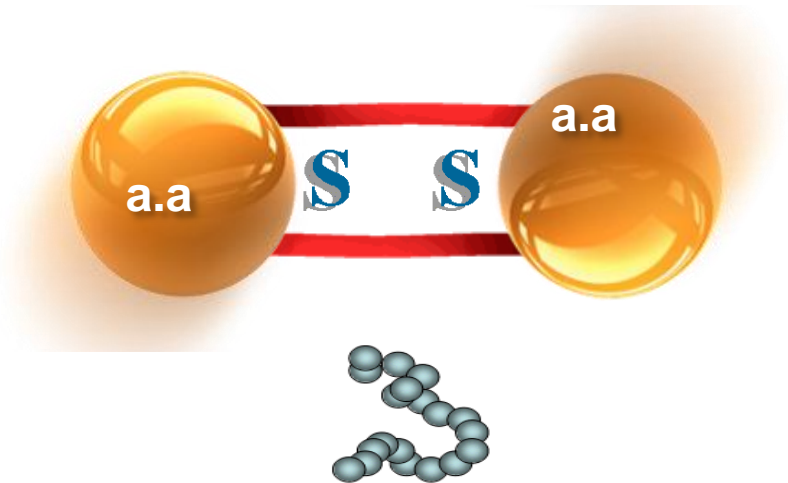
TN3: MERCAPTOETHANOL

- Là hợp chất tự nhiên hay tổng hợp nhân tạo
- Làm chậm (hay ức chế) quá trình oxy hóa trong các phản ứng sinh học
- Nhóm OS^- có khả năng mạnh trong hoán chuyển điện tử làm đứt các cầu nối disulfua mà không ảnh hưởng tới cấu trúc, hoạt tính của các peptid



KẾT QUẢ

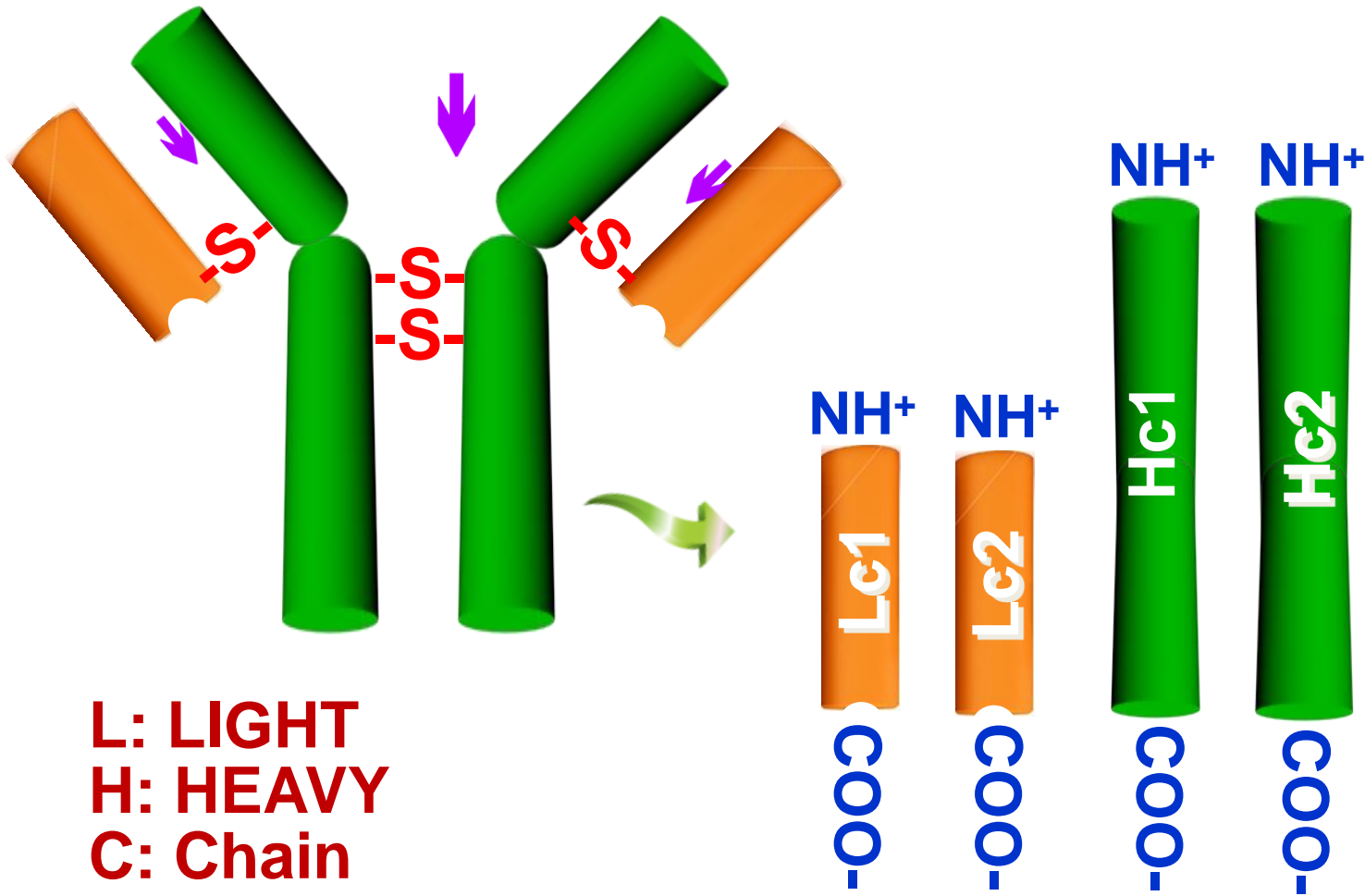
- Các cầu nối disulfua không còn
- Ig ứng viên bị cắt ra 4 chuỗi (2 cặp)
- Hai chuỗi ngắn bằng nhau (22.000) gọi là chuỗi nhẹ (Light chain-Lc)
- Hai chuỗi dài bằng nhau (53.000dal) gọi là chuỗi nặng (Heavy chain-Hc)
- Cả 4 chuỗi đều có các đầu C,N tự do



HOẠT TÍNH MỖ
không còn !

(Các chuỗi peptid dài hơn bình thường ?)

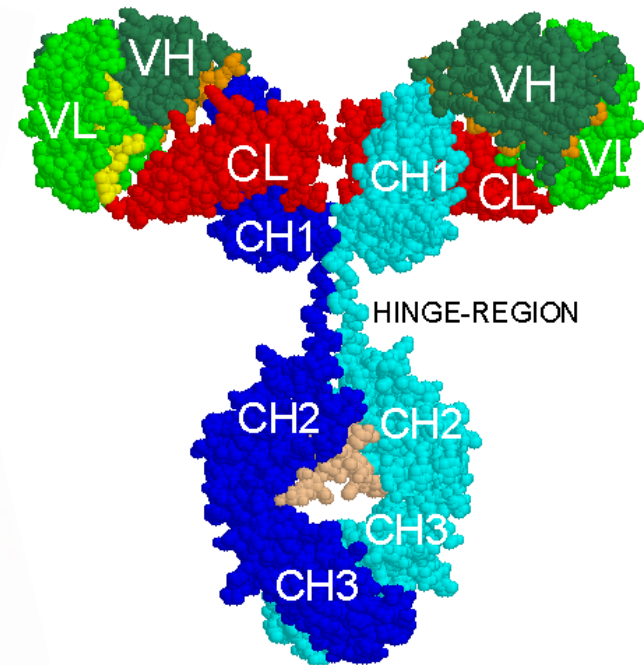
MERCAPTOETHANOL



NHẬN ĐỊNH

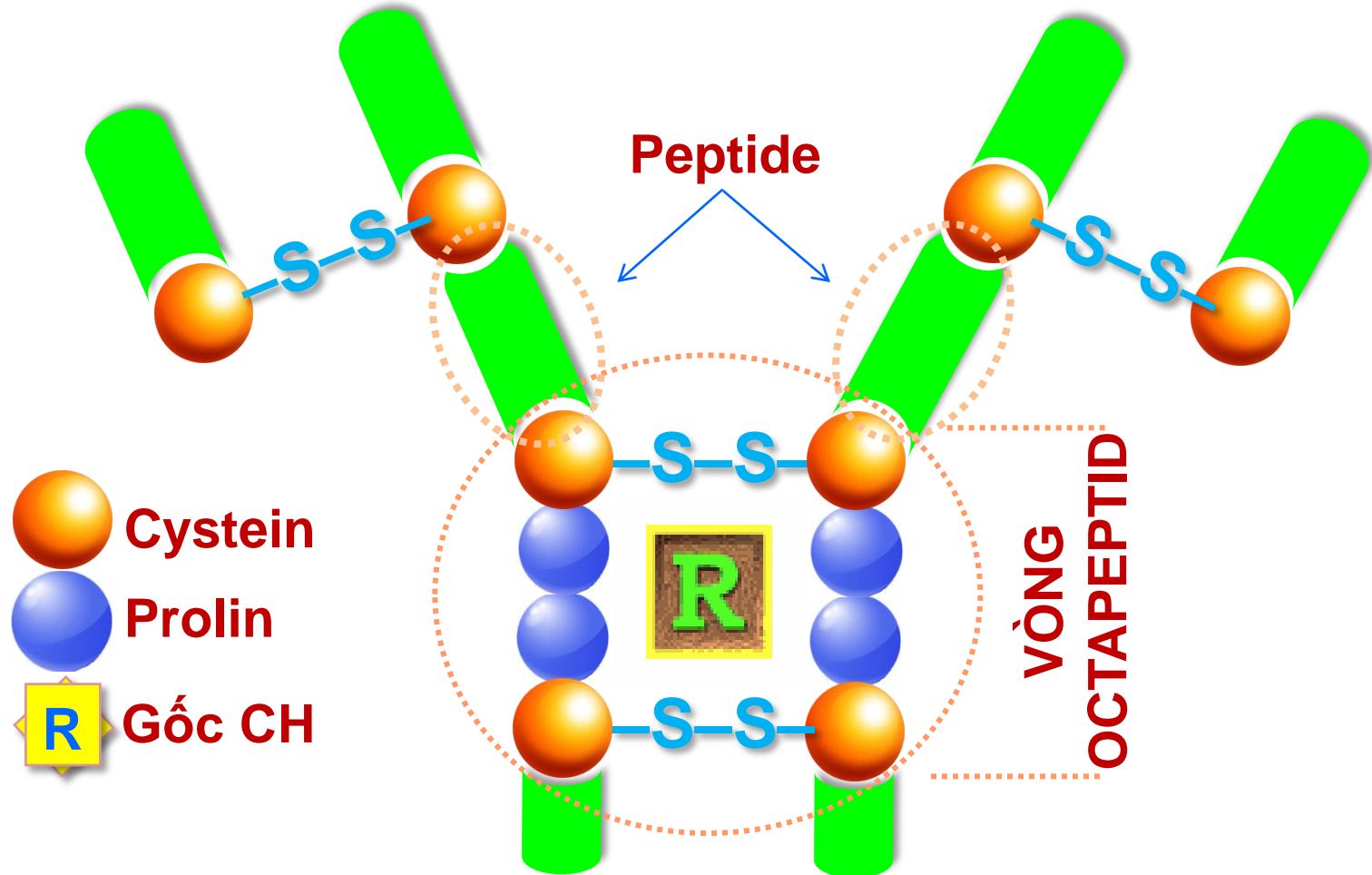
- ✿ Hc có chiều dài gấp đôi Lc
- ✿ Mỗi chuỗi đều có 2 đầu tự do
- ✿ Cấu trúc bậc 1 các chuỗi không đối
 - Mỗi Hc có ~450 a.a
 - Mỗi Lc có 211-221 a.a
- ✿ Mỗi cặp chuỗi cấu trúc đối xứng
- ✿ Hoạt tính MD chỉ có khi 1 Lc + Hc

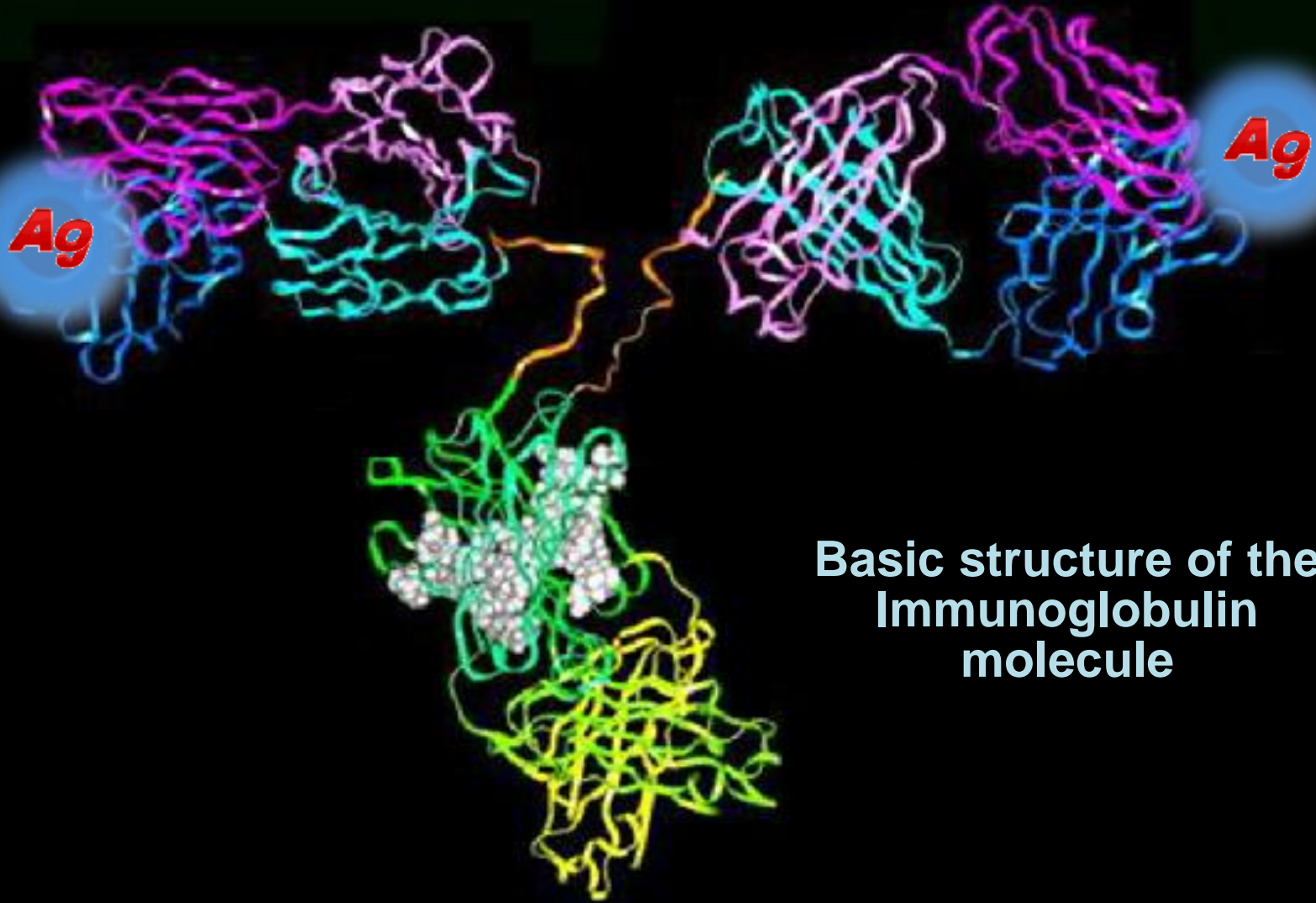
KẾT LUẬN



CẤU TRÚC CƠ SỞ

HINGE-REGION (OCTAPEPTIDE)





**Basic structure of the
Immunoglobulin
molecule**

TỔNG QUAN

Vùng bản lề chỉ có Cys và Pro

Các cầu disulfua nối các chuỗi với nhau đều ở vị trí của a.a Cys

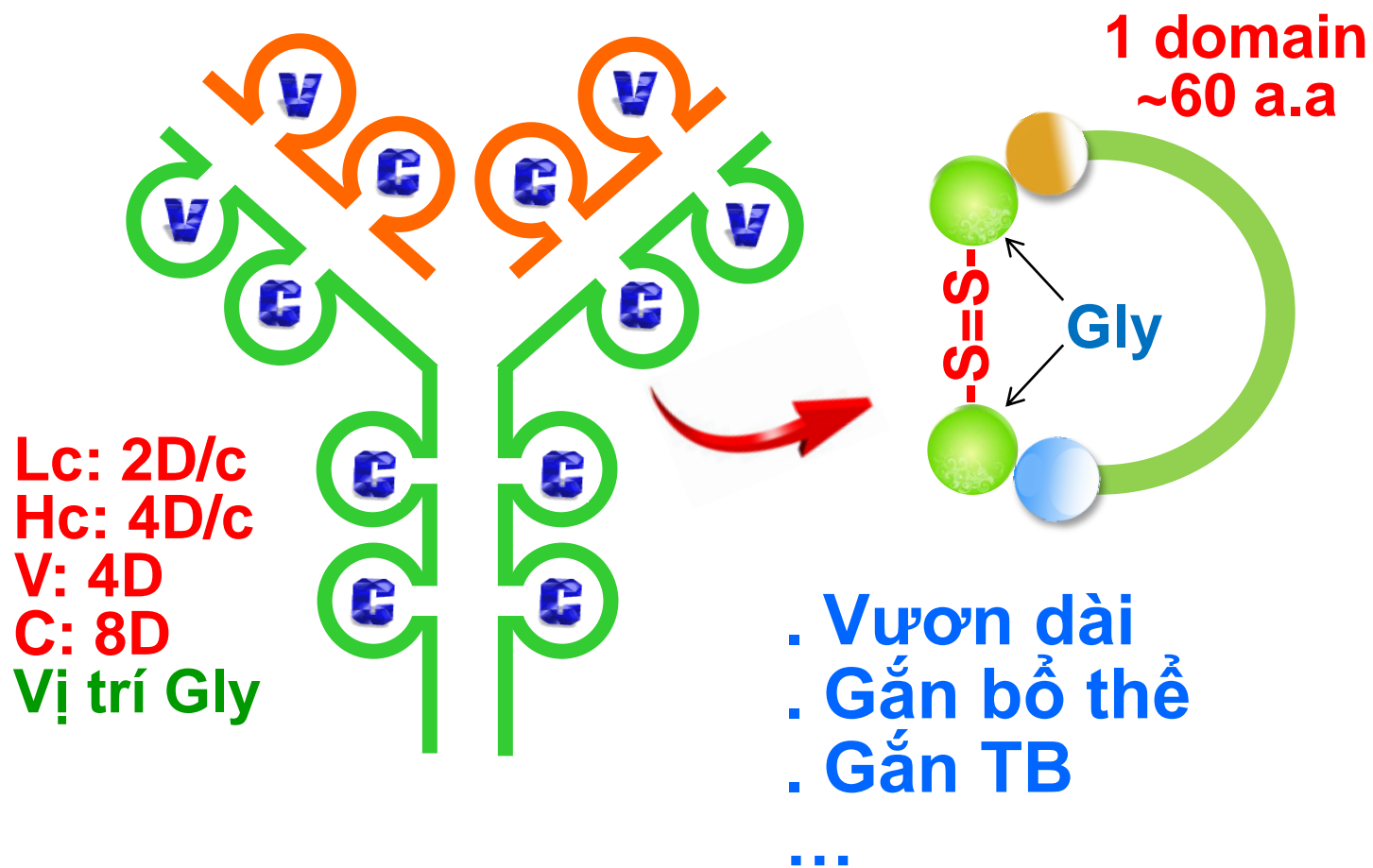
Trung tâm của vùng bản lề là một khung hydratcarbon bền

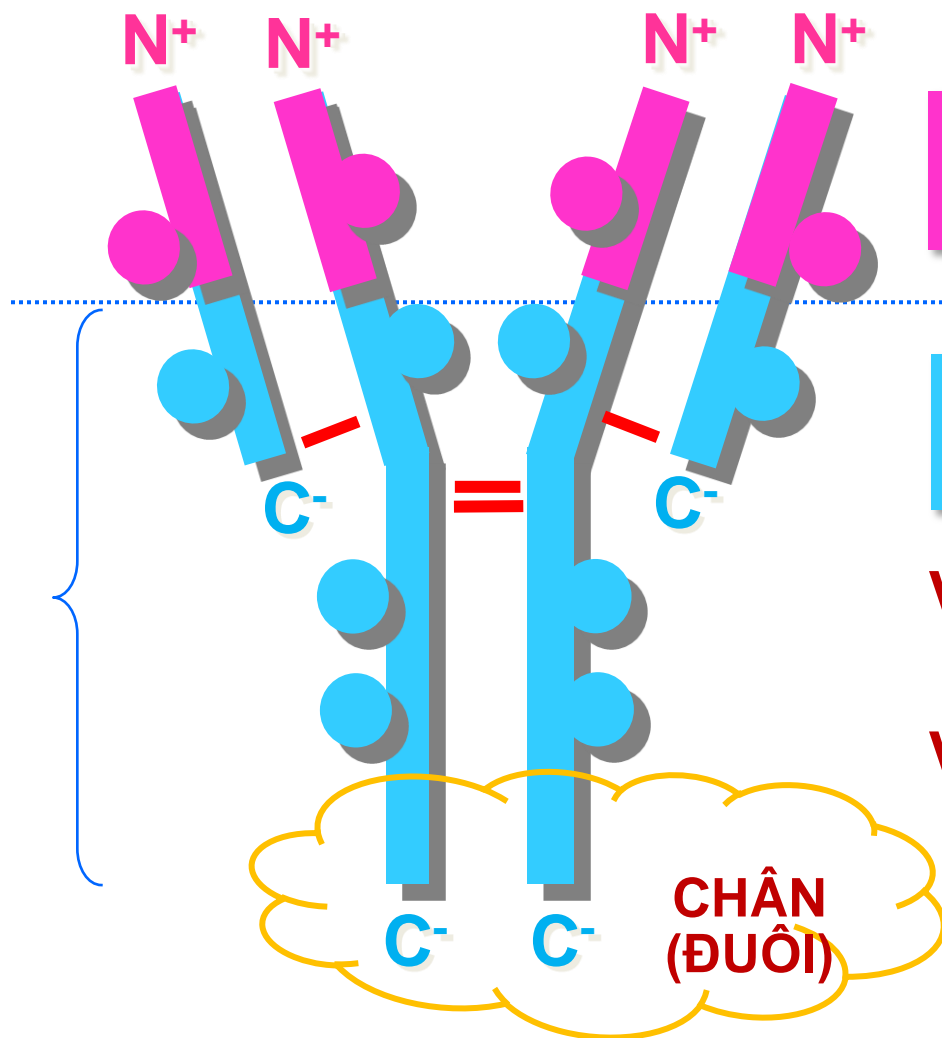
Hai nhánh của Ig linh động
(vươn dài, khép mở 2 chuỗi và theo cặp, đầu quay 3 chiều, Lc xoay tròn)

Vùng bản lề (bền với các protease mô & serum)

- Tín hiệu của tiến hóa?
- Trung tâm hướng hóa động?

DOMAIN





VÙNG BIẾN ĐỔI
(V: Variable)

VÙNG ỔN ĐỊNH
(C: Constant)

Vùng C: 4 đầu C⁻
Gắn TB, BT

Vùng V: 4 đầu H⁺
Giáng hóa KN

CẦU TRÚC PHỤ

VÀ

HOẠT ĐỘNG

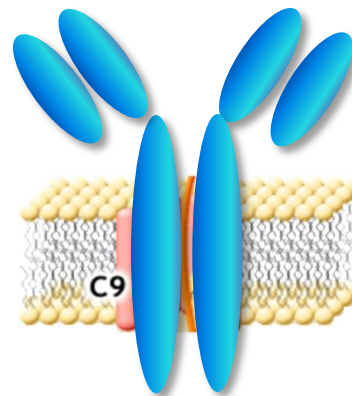
MIỄN DỊCH

MÀNG TẾ BÀO

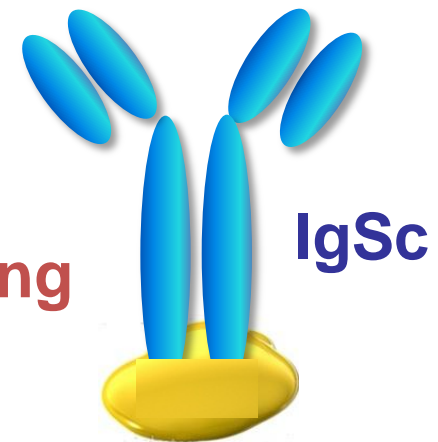
HỢP PHẦN TIẾT Sc (Secretory component)
(polypeptid~70.000 d, do plasma cell tiết)

2 dạng đuôi
COO- của Ig

- Định vị Ig
- Vận chuyển
- Tạo tổ hợp Ig



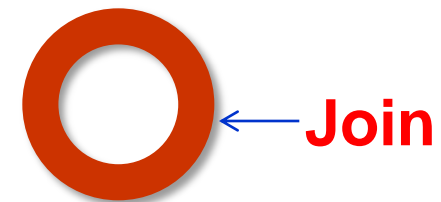
Ig
màng



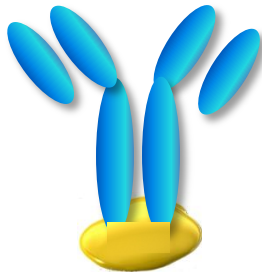
IgSc

CHUỖI NỐI J (Joining chain)

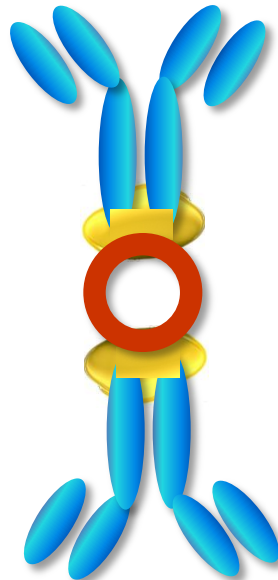
**Kết nối các phân tử Ig đơn
(qua trung gian Sc) thành
đại pt (polymer) Ig hoạt tính**



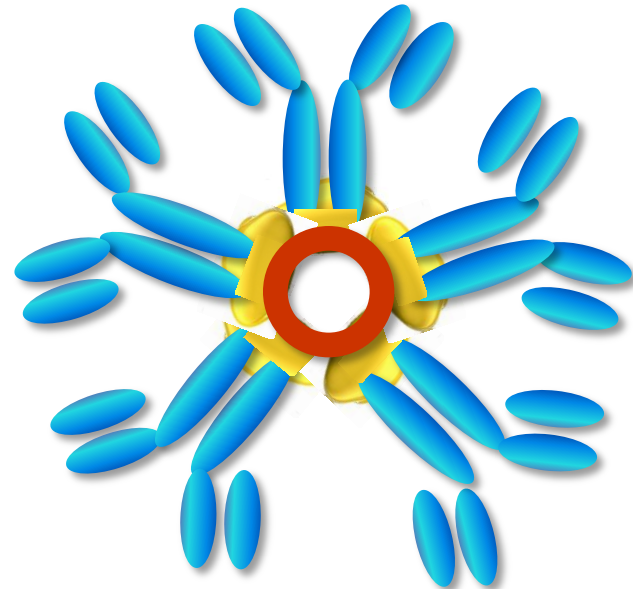
- * **Monomer: 1 Ig + Sc**
- * **Dimer: 2 Ig + 2Sc và 1J**
- * **Pentamer: 5 Ig + 5Sc và 1J**



**IgD, IgE
IgG, IgA**



IgA



IgM

SUMMARY

Ig	Hc	Lc	Form	Dalton
IgG	2 γ	2 κ	monomer	150.000
IgE	2 ϵ	2 κ	monomer	180.000
IgM	10 μ	10 λ	pentamer	900.000
IgA	4 α	4 λ	dimer	160.000
IgD	2 δ	2 κ	monomer	170.000



- Chiếm 75% Ig trong serum
- Ig duy nhất nhận từ mẹ
- Gắn màng nhiều loại TB
- Phản ứng điển hình: ngưng kết VK, trung hòa virus và độc tố SH
- Hoạt hóa bổ thể, tb thực bào, tb K
- Có 4 phân lớp (IgG 1, 2, 3, 4)
- Người VN: 14mg/1ml serum



- 🔒 Tác dụng tăng tính thấm màng
- 🔒 Là kháng thể dịch thể nhưng có thể bám trên basophil giải phóng histamin, serotonin...
- 🔒 Nồng độ rất thấp (100mg/l máu) nhưng tăng nhanh khi nhiễm KST
- 🔒 Có vai trò chủ yếu trong dị ứng và nhiễm KST, các chất độc sinh học
- 🔒 Kháng thể gây phản vệ

IgM

- ◆ Có 8-10% Ig trong serum
- ◆ 10 paratop: hoạt tính mạnh
- ◆ Được tổng hợp rất nhanh
- ◆ Hoạt hóa bổ thể mạnh
- ◆ Hình thành ở cuối thai kỳ
- ◆ KN nhóm máu ABO
- ◆ Có thể phá vách, lông mao VK
- ◆ Hai phân lớp IgM₁ và IgM₂



- ◆ Hai loại: IgA serum (máu) và IgA tiết (sữa, nước tiểu, dịch xoang...)
- ◆ Ở người 2 dạng monomer & dimer
- ◆ Hoạt động mạnh ở bề mặt niêm mạc
- ◆ Tham gia KN nhóm máu (trừ Rh)
- ◆ Đời sống ngắn (không quá 6 ngày)
- ◆ KT yếu - 2 phân lớp IgA₁ và IgA₂
- ◆ Người VN: 320mg/100ml máu



- ~ Có nồng độ thấp nhất trong máu
- ~ Rất mẫn cảm với protease, do vậy luôn có xu hướng tự phân giải
- ~ Khảm rất nhiều trên bề mặt lympho, nhưng chức năng chưa được biết hết
(Có dấu hiệu liên quan tới sự biệt hóa và tăng sinh lympho B?)

HAI CƠ CHẾ HOẠT ĐỘNG CHÍNH CỦA KHÁNG THỂ

.Song hành

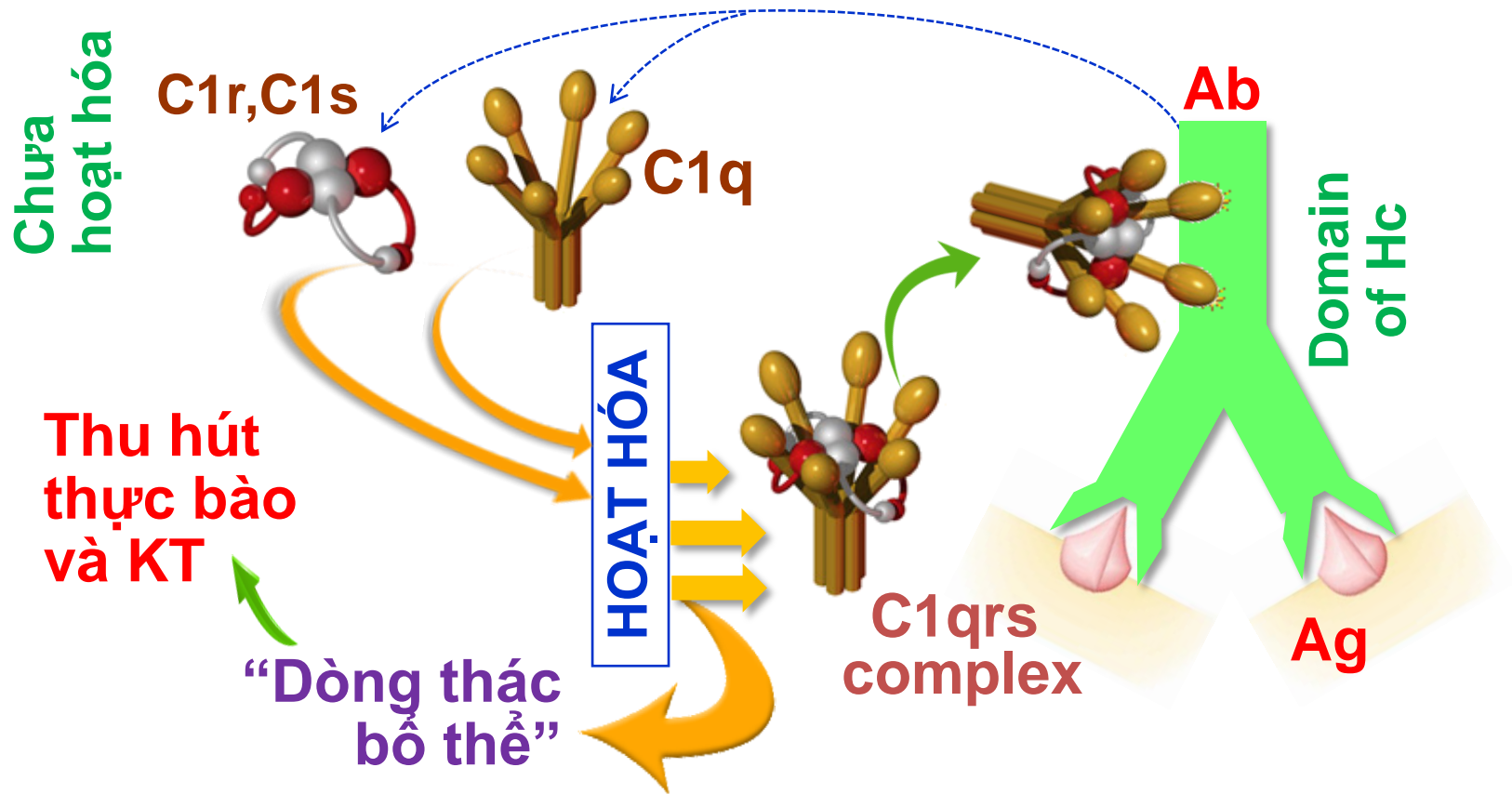
.Liên quan
tới hai
cấu trúc
V và C

**LIÊN KẾT
VỚI KN**

**HOẠT HÓA
BỎ THỂ**

(xem phần KN)

HOẠT HÓA BỔ THỂ



CẢM ƠN