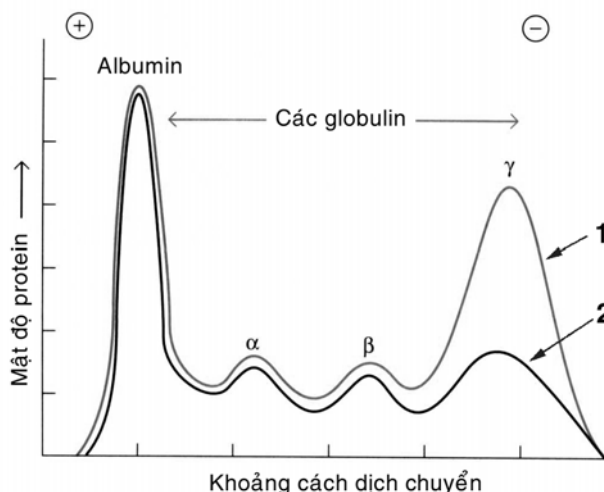


# KHÁNG THỂ

Các kháng thể (antibody) hay còn gọi là các globulin miễn dịch (immunoglobulin - ám chỉ thành phần cung cấp khả năng miễn dịch nằm ở phân globulin của huyết thanh khi phân tích bằng điện di) là những phân tử protein hoạt động như những thụ thể trên bề mặt tế bào lympho B để nhận diện kháng nguyên hoặc như những sản phẩm tiết của tế bào plasma. Về nguồn gốc, tế bào plasma chính là tế bào lympho B sau khi đã nhận diện kháng nguyên, hoạt hoá và biệt hoá thành. Những kháng thể do tế bào plasma tiết ra có tính đặc hiệu với kháng nguyên giống hệt như tính đặc hiệu của phân tử kháng thể trên bề mặt tế bào lympho B đóng vai trò là thụ thể dành cho kháng nguyên đã nhận diện kháng nguyên ban đầu. Các kháng thể này sẽ lưu hành trong máu và bạch huyết, chúng hoạt động như những thành phần thực hiện của đáp ứng miễn dịch dịch thể bằng cách phát hiện và trung hoà hoặc loại bỏ các kháng nguyên. Các kháng thể thực hiện hai chức năng chính: chúng gắn một cách đặc hiệu vào một kháng nguyên và chúng tham gia trong một số chức năng sinh học khác. Bài này chúng ta sẽ tìm hiểu về cấu trúc của các phân tử kháng thể và những đặc điểm cấu trúc góp phần tạo ra tính đặc hiệu và chức năng của những phân tử này.

## 1. Cấu trúc cơ bản của kháng thể

Từ đầu thế kỷ XX người ta đã biết rằng các kháng thể là các phân tử thực hiện của đáp ứng miễn dịch dịch thể xuất hiện trong huyết thanh. Năm 1939 Tiselius và Kabat đã tiến hành phát hiện phân protein huyết thanh chứa các kháng thể. Các tác giả đã gây miễn dịch cho thỏ bằng ovalbumin sau đó chia huyết thanh của thỏ đã được gây miễn dịch thành hai phần bằng nhau. Phần thứ nhất được điện di để phân tách thành bốn thành phần: albumin và các  $\alpha$ -,  $\beta$ - và  $\gamma$ - globulin; Phần thứ hai được cho phản ứng với kháng nguyên để hình thành chất kết tủa, sau đó loại bỏ chất tủa này rồi sử dụng phần huyết thanh còn lại để điện di. So sánh hình ảnh điện di của hai mẫu huyết thanh này, các tác giả phát hiện thấy trong mẫu điện di thứ hai các thành phần trong phần  $\gamma$ -globulin giảm đi đáng kể (hình 5.1). Như vậy phần  $\gamma$ -globulin có chứa các kháng thể của huyết thanh và vì vậy chúng được đặt tên là globulin miễn dịch để phân biệt với các protein khác còn lại trong phần  $\gamma$ -globulin.



**Hình 5.1: Kháng thể thuộc phần  $\gamma$ -globulin của huyết thanh.**

(1) huyết thanh không tủa.  
(2) huyết thanh sau tủa với kháng nguyên.

### 1.1. Cấu trúc chung của kháng thể

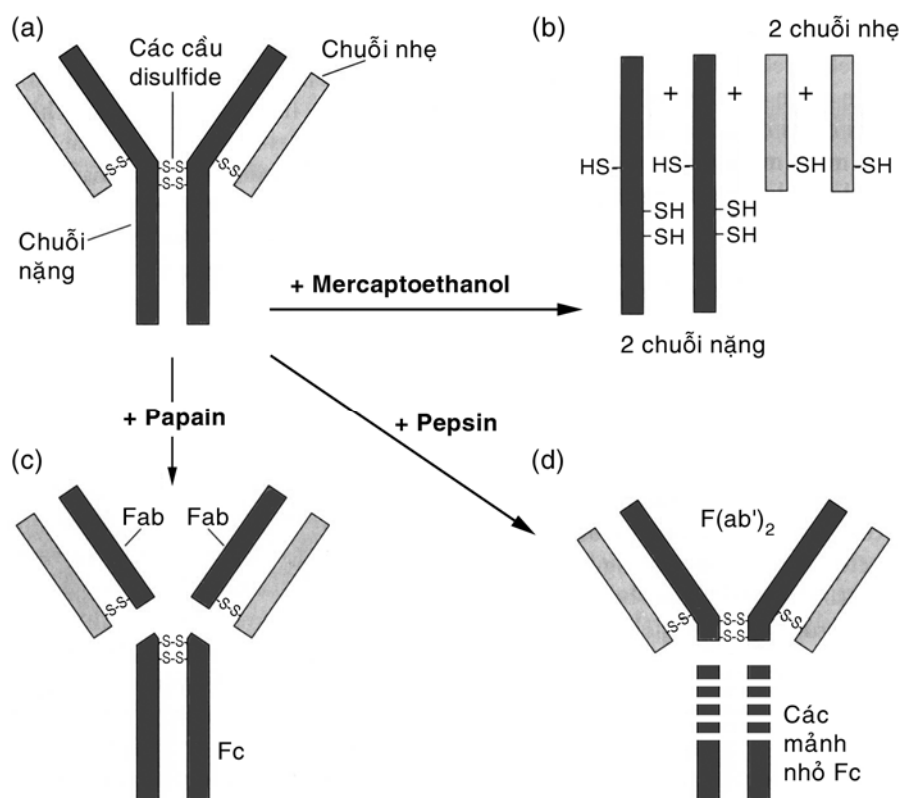
Cấu trúc của kháng thể lần đầu tiên được nghiên cứu bởi Edelman (Mỹ) và sau này được khẳng định bởi Porter (Anh) vào những năm 1950-1960. Công trình này có một ý nghĩa đáng kể và hai nhà khoa học đã được trao giải thưởng Nobel về y học năm 1972. Các cách tiếp cận thực nghiệm của Edelman và của Porter rất khác nhau. Edelman đã tách phân tử globulin miễn dịch bằng cách khử các cầu disulfide liên chuỗi để thu được các chuỗi riêng biệt, trong khi đó Porter phân cắt các phân tử globulin miễn dịch bằng các enzyme để thu được các mảnh peptide. Kết quả của mỗi phương pháp đã bổ sung cho nhau và cho phép chúng ta hiểu được cấu trúc cơ bản của phân tử globulin miễn dịch.

Cả Porter và Edelman đều tách phân tử  $\gamma$ -globulin của huyết thanh bằng siêu ly tâm để thu được hai phần nhỏ: phần thứ nhất có trọng lượng phân tử cao có hằng số lắng là 19S; phần thứ hai có trọng lượng phân tử thấp và hằng số lắng là 7S. Các tác giả đã tách riêng phần 7S, xác định được trọng lượng phân tử là 150.000 Da và ký hiệu là globulin miễn dịch G (Immunoglobulin G – viết tắt là IgG). Edelman đã khử các cầu disulfide (-S-S-) của phân tử IgG bằng mercaptoethanol rồi tiến hành điện di trên gel tinh bột trong môi trường 8M urê để khử các cầu disulfide nội chuỗi và liên chuỗi làm cho phân tử được trải ra mà không còn cấu trúc cuộn gấp nữa. Tác giả thu được 2 vệt điện di và điều này chứng tỏ rằng phân tử IgG có nhiều hơn một chuỗi polypeptide. Porter cũng phát triển thí nghiệm này bằng cách tạo ra phản ứng khử nhẹ hơn sao cho chỉ cắt các cầu disulfide liên chuỗi mà thôi, sau đó tiến hành alkyl hoá các nhóm sulfhydryl (SH) lộ ra bên ngoài bằng iodoacetamide để ngăn cản sự tái tạo ngẫu nhiên của các cầu disulfide. Ngoài ra tác giả còn cho thêm acid propionic hữu cơ để ngăn cản sự ngưng tập. Sau đó tiến hành sắc ký trên cột để phân tách các phân tử dựa trên kích thước của chúng. Thí nghiệm này đã cho thấy phân tử IgG có trọng lượng phân tử 150.000 Da được hợp thành từ bốn chuỗi polypeptide: 2 chuỗi, mỗi chuỗi có trọng lượng phân tử 50.000, được gọi là các chuỗi nặng (heavy chain - ký hiệu là chuỗi H) và 2 chuỗi, mỗi chuỗi có trọng lượng phân tử là 25.000, được gọi là các chuỗi nhẹ (light chain - ký hiệu là chuỗi L) (hình 5.2-b).

Porter đã phân cắt IgG bằng enzyme papain thành các mảnh khác nhau. Mặc dù papain là một enzyme hoạt động thủy phân protein không đặc hiệu và phân cắt toàn bộ phân tử protein, nhưng nếu thời gian tác dụng ngắn thì enzyme này chỉ phân cắt các cầu disulfide nhạy cảm nhất. Trong điều kiện như vậy papain đã phân cắt phân tử IgG thành hai mảnh giống nhau (mỗi mảnh có trọng lượng phân tử là 45.000 Da) được gọi là các mảnh Fab (antigen binding fragment), bởi vì mảnh Fab vẫn giữ nguyên khả năng gắn với kháng nguyên của phân tử kháng thể nguyên vẹn. Ngoài hai mảnh Fab tác giả còn thu được một mảnh nữa có trọng lượng phân tử là 50.000 Da được gọi là mảnh Fc vì khi bảo quản trong lạnh chúng bị kết tinh hoá thành tinh thể (chữ c bắt nguồn từ chữ crystallizable nghĩa là có khả năng kết tinh) (hình 5.2-c). Một tác giả khác là Nisonoff cũng tiếp cận nghiên cứu bằng cách tương tự nhưng dùng enzyme pepsin thay cho enzyme papain. Khi cho pepsin tác dụng ngắn với phân tử IgG thì thu được một mảnh có trọng lượng phân tử 100.000 Da gồm 2 mảnh Fab gộp lại và ký hiệu là mảnh  $F(ab')_2$  (hình 5.2-d). Mảnh  $F(ab')_2$  cũng gây kết tủa kháng nguyên. Tuy nhiên khi xử lý bằng pepsin không thu được mảnh Fc mà thay vào đó là một số mảnh peptide nhỏ.

Vấn đề còn lại là đi xác định xem các sản phẩm phân cắt bởi enzyme [Fab;  $F(ab')_2$  và Fc] có liên quan như thế nào với các sản phẩm phân rã của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ? Để trả lời câu hỏi này Porter đã sử dụng kháng huyết thanh dê được gây miễn dịch bởi các mảnh Fab và Fc của phân tử IgG thỏ. Ông đã phát hiện thấy rằng kháng thể kháng Fab có thể tương tác với cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ, trong khi đó kháng thể kháng Fc thì chỉ phản ứng với chuỗi nặng mà thôi. Điều này chứng tỏ Fab có chứa các thành phần của cả chuỗi nặng và chuỗi nhẹ còn Fc thì chỉ chứa các thành phần của chuỗi nặng. Các kết quả này đã khẳng định mô hình đầu tiên về cấu trúc phân tử IgG mà Porter đã đưa ra. Theo mô hình

này thì phân tử IgG bao gồm hai chuỗi nặng giống hệt nhau và hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau được liên kết với nhau bằng các cầu disulfua (-S-S-) (hình 5.2-a). Enzyme papain phân cắt ngay phía trên cầu disulfua liên chuỗi nối giữa hai chuỗi nặng còn enzyme pepsin thì phân cắt ngay phía dưới cầu disulfua này, và vì thế hai enzyme thuỷ phân protein tạo ra các sản phẩm phân cắt khác nhau. Khi sử dụng mercaptoethanol để khử và akyl hoá sẽ cho phép ta tách riêng được các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ.



**Hình 5.2: Cấu trúc chung của kháng thể (a) và các mảnh thu được khi xử lý kháng thể với các enzyme và hoá chất khác nhau (b, c, d).**

## 1.2. Các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng

Mỗi phân tử kháng thể ở dạng đơn phân được cấu tạo từ 4 chuỗi polypeptide bao gồm 2 chuỗi nhẹ (chuỗi L) giống hệt nhau và 2 chuỗi nặng (chuỗi H) giống hệt nhau. Mỗi chuỗi nhẹ có trọng lượng phân tử là 25.000 Da, còn mỗi chuỗi nặng có trọng lượng phân tử 50.000 Da hoặc lớn hơn tùy theo lớp kháng thể. Mỗi chuỗi nhẹ được nối vào với chuỗi nặng bởi một cầu disulfide (-S-S-) và các liên kết không đồng hoá trị như các liên kết hydro, liên kết kỵ nước. Tương tự như vậy, hai chuỗi nặng cũng được nối vào nhau bằng các liên kết không đồng hoá trị và các cầu disulfide. Số lượng cầu disulfide và vị trí chính xác mà chúng nối kết các chuỗi nặng với nhau thay đổi tùy theo lớp và lớp nhỏ kháng thể. Các cầu disulfide nối các chuỗi với nhau như vậy được gọi là các cầu disulfide liên chuỗi.

Bằng các kỹ thuật hoá sinh và huyết thanh học người ta đã xác định ở hầu hết các loài đều có hai loại chuỗi nhẹ là kappa ( $\kappa$ ) và lambda ( $\lambda$ ). Mỗi cá thể của một loài nào đó đều tạo ra cả hai loại chuỗi nhẹ nhưng tỷ lệ chuỗi nhẹ  $\kappa$  so với chuỗi nhẹ  $\lambda$  thì thay đổi tùy theo loài (tỷ lệ chuỗi nhẹ  $\kappa$  ở chuột nhất là 95% và ở người là 60%). Tuy nhiên ở mỗi phân tử kháng thể thì hai chuỗi nhẹ luôn luôn cùng một loại (cùng là  $\kappa$  hoặc cùng là  $\lambda$ ).

Trong khi chỉ có hai loại chuỗi nhẹ thì hầu như tất cả các loài lại tồn tại 5 loại chuỗi nặng. Các chuỗi nặng khác nhau về tính chất kháng nguyên, số lượng carbohydrate có trong mỗi chuỗi và kích thước của chuỗi. Điều quan trọng là sự khác nhau ấy tạo nên sự khác nhau về hoạt tính sinh học của phân tử kháng thể mà chúng tạo thành, và vì thế 5 loại chuỗi nặng khác nhau đã tạo nên 5 lớp kháng thể khác nhau. Tên các chuỗi nặng đó là  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  và  $\epsilon$  cấu tạo nên các lớp kháng thể tương ứng là IgG, IgM, IgA, IgD và IgE (bảng 5.1). Tương tự như chuỗi nhẹ, mỗi cá thể trong một loài đều tạo ra cả 5 loại chuỗi nặng và tỷ lệ các chuỗi nặng thay đổi theo loài song ở mỗi phân tử kháng thể thì 2 chuỗi nặng luôn luôn cùng một loại.

Khi phân tích kỹ hơn chuỗi nặng thuộc loại  $\gamma$  người ta thấy mặc dù trọng lượng phân tử như nhau nhưng có sự khác nhau chút ít về trình tự các acid amine giữa các chuỗi thuộc loại này dẫn đến sự phân chia chuỗi  $\gamma$  thành 4 loại nhỏ là  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ . Kết quả là lớp kháng thể IgG cũng được phân thành các lớp nhỏ hay dưới lớp là IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Đặc tính sinh học của các lớp nhỏ này cũng có sự khác nhau nhất định (xem phần sau). Tương tự như vậy, chuỗi  $\alpha$  cũng có hai loại là  $\alpha_1$  và  $\alpha_2$  cấu tạo nên hai lớp nhỏ IgA tương ứng là IgA1 và IgA2. Các chuỗi  $\mu$ ,  $\delta$  và  $\epsilon$  thì chỉ có một loại.

**Bảng 5.1: Các lớp kháng thể và chuỗi nặng, nhẹ tạo nên chúng**

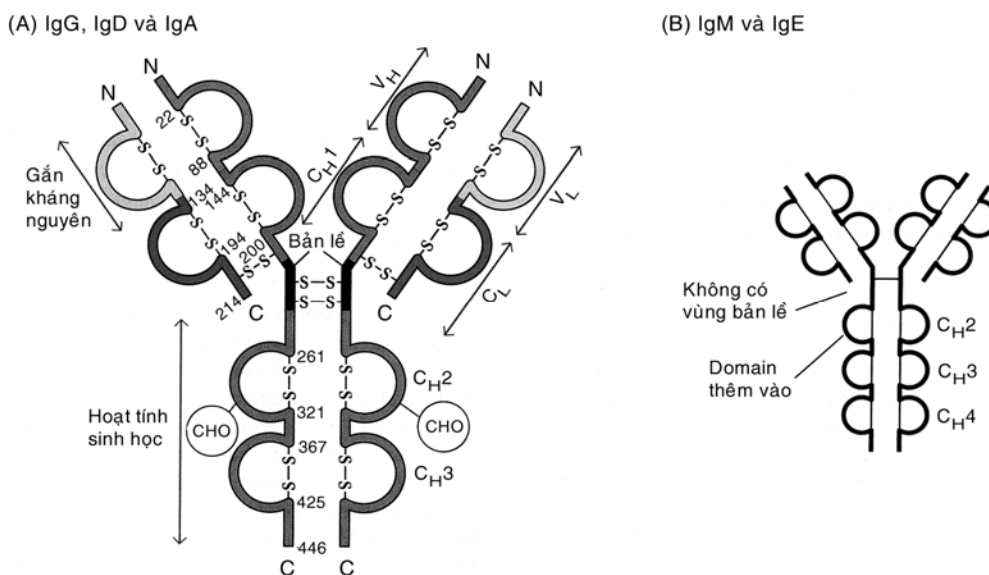
Lớp kháng thể	Chuỗi nặng	Lớp nhỏ	Chuỗi nhẹ
IgG	$\gamma\gamma$	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$
IgM	$\mu\mu$	không	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$
IgA	$\alpha\alpha$	$\alpha_1, \alpha_2$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$
IgD	$\delta\delta$	không	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$
IgE	$\epsilon\epsilon$	không	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$

### 1.3. Vùng biến đổi và vùng hằng định

Khi phân tích trình tự của các acid amine của các chuỗi nặng và chuỗi nhẹ người ta thấy trật tự của 110 acid amine ở đầu amine (đầu N tận) của các chuỗi nhẹ và nặng thay đổi tùy theo tính đặc hiệu của các kháng thể. Vì thế vùng này được gọi là vùng biến đổi (variable region – kí hiệu là vùng V). Vùng biến đổi của chuỗi nhẹ được kí hiệu là  $V_L$  và vùng biến đổi của chuỗi nặng được kí hiệu là  $V_H$ . Trong vùng biến đổi lại có những vùng có trật tự các acid amine biến đổi nhiều nhất được gọi là vùng siêu biến (hypervariable region). Đây là những vùng tạo nên vị trí để phân tử kháng thể gắn vào kháng nguyên, chính vì thế vùng này cần có sự thay đổi các acid amine để tạo ra cấu trúc không gian phù hợp nhất với cấu trúc không gian của các quyết định kháng nguyên khác nhau. Vì lẽ đó vùng siêu biến còn được gọi là vùng quyết định bổ cứu (complementarity-determining region – viết tắt là CDR). Do cấu trúc không gian ba chiều của kháng thể là cấu trúc cuộn gấp mà vị trí gắn kháng nguyên của phân tử kháng thể là vùng lộ ra bên ngoài nên nó được tạo bởi nhiều vùng CDR. Số lượng vùng CDR phụ thuộc vào số lần cuộn gấp của đoạn polypeptide ở vùng V. Có 3 vùng CDR trên vùng  $V_H$  và 3 vùng CDR trên vùng  $V_L$ . Các đoạn xen kẽ giữa các vùng CDR được gọi là các vùng khung (framework region – kí hiệu là FR). Vùng khung có trật tự các acid amine ít biến đổi hơn so với vùng CDR.

Phần còn lại của các chuỗi nặng và nhẹ có trật tự các acid amine tương đối hằng định nên được gọi là vùng hằng định (constant region – kí hiệu là vùng C). Vùng hằng định của chuỗi nhẹ được kí hiệu là  $C_L$  và vùng hằng định của chuỗi nặng được kí hiệu là  $C_H$ . Vùng

hàng định có các vị trí đóng vai trò là thụ thể để gắn với bổ thể (thụ thể của kháng thể dành cho bổ thể). Vị trí gắn với thụ thể trên bề mặt một số loại tế bào dành cho Fc của kháng thể cũng nằm ở vùng hàng định. Thông qua các vị trí này mà kháng thể phát huy các hoạt tính sinh học nên vùng hàng định được coi là vùng quyết định các hoạt tính sinh học của kháng thể. Bản chất của kháng thể là glycoprotein tức là cấu trúc bao gồm có protein và carbohydrate. Vị trí các gốc carbohydrate (CHO) gắn thêm vào kháng thể cũng ở vùng hàng định. Người ta chưa hiểu hết vai trò của quá trình glycosyl hoá gắn thêm các gốc đường vào kháng thể nhưng có lẽ điều này làm tăng tính hoà tan của kháng thể và có liên quan đến chức năng hoạt hoá bổ thể và khả năng gắn vào các thụ thể dành cho Fc của kháng thể. Nếu không có quá trình gắn thêm các gốc đường vào kháng thể hoặc gắn không đúng đều ảnh hưởng đến tốc độ thanh lọc kháng thể trong huyết thanh, làm giảm khả năng tương tác của kháng thể với hệ thống bổ thể và các thụ thể dành cho Fc của kháng thể.



**Hình 5.3: Cấu trúc chi tiết phân tử kháng thể.** (a) Các chuỗi nặng và nhẹ cuộn lại tạo thành các domain hình cầu. Domain ở đầu N tận tương ứng với vùng biến đổi (vùng V) tham gia vào việc gắn kháng nguyên; các domain còn lại tham gia vào các chức năng khác của kháng thể. (b) Chuỗi  $\mu$  và  $\epsilon$  của IgM và IgE không có vùng bản lề, thay vào đó là một domain hình cầu khác.

#### 1.4. Các domain

Bên cạnh các cầu disulfide liên chuỗi nối các chuỗi nặng với chuỗi nặng và chuỗi nặng với chuỗi nhẹ, trong mỗi chuỗi còn có các cầu disulfide nội chuỗi nối các acid amine nằm cách xa nhau trong cùng một chuỗi làm cho cấu trúc của chuỗi polypeptide cuộn lại thành các cuộn hình cầu được gọi là các domain. Tần suất xuất hiện các cầu disulfide nội chuỗi này khá đều và khoảng cách giữa 2 acid amine nối với nhau bởi cầu disulfide nội chuỗi cũng tương đối đều khoảng 100-110 acid amine. Mỗi chuỗi nhẹ có 2 domain như vậy và mỗi chuỗi nặng có từ 4 đến 5 domain. Các domain nằm cách nhau một đoạn acid amine không cuộn gấp. Mỗi domain được kí hiệu bằng phân chữ thể hiện domain ấy ở trên chuỗi nặng hay chuỗi nhẹ và phân số thể hiện vị trí của domain ấy trong chuỗi (hình 5.3). Domain thứ nhất của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ tương ứng với vùng biến đổi của các chuỗi này (tức là  $V_H$  và  $V_L$ ). Domain thứ hai của chuỗi nhẹ tương ứng với vùng hàng định của chuỗi nhẹ ( $C_L$ ). Các domain còn lại của chuỗi nặng được kí hiệu là  $C_H1$ ,  $C_H2$ ,  $C_H3$  và  $C_H4$  (đối với IgM và IgE). Bên cạnh các cầu disulfide liên chuỗi thì các domain kế cận nhau của hai chuỗi cũng tạo cặp với nhau chủ yếu thông qua các liên kết kỵ nước thành các cặp  $V_H-V_L$ ,  $C_H1-C_L$ ;  $C_H2-C_H2$ ;  $C_H3-C_H3$  và  $C_H4-C_H4$ .

## 1.5. Vùng bản lề

Ngoại trừ IgM và IgE, vùng bản lề của các kháng thể được cấu tạo bởi một đoạn acid amine ngắn nằm giữa vùng  $C_H1$  và  $C_H2$  của các chuỗi nặng (hình 5.3). Đoạn này chủ yếu chứa các gốc cysteine và proline. Cysteine tham gia vào việc hình thành các cầu disulfide liên chuỗi còn proline thì ngăn không cho chuỗi polypeptide cuộn lại tạo nên cấu trúc hình cầu. Vùng bản lề tạo cho phân tử kháng thể một đặc điểm cấu trúc rất quan trọng đó là tính mềm dẻo có thể mở ra hay khép lại của 2 cánh (là phần Fab) của cấu trúc hình chữ Y. Việc mở ra hay khép lại được như vậy giúp cho hai vị trí gắn kháng nguyên ở hai đầu tận cùng của phần Fab có thể tiếp cận được 2 quyết định kháng nguyên nằm cách nhau những khoảng cách khác nhau trên phân tử kháng nguyên (ví dụ như trên bề mặt vi khuẩn). Bên cạnh đó do cấu trúc là đoạn peptide mạch thẳng nên vùng bản lề cũng là vùng dễ lộ diện để cho các enzyme thuỷ phân protein (như papain) tiếp cận phân cắt phân tử kháng thể tại vị trí đó tạo ra các mảnh Fab và Fc như đã trình bày ở phần trên.

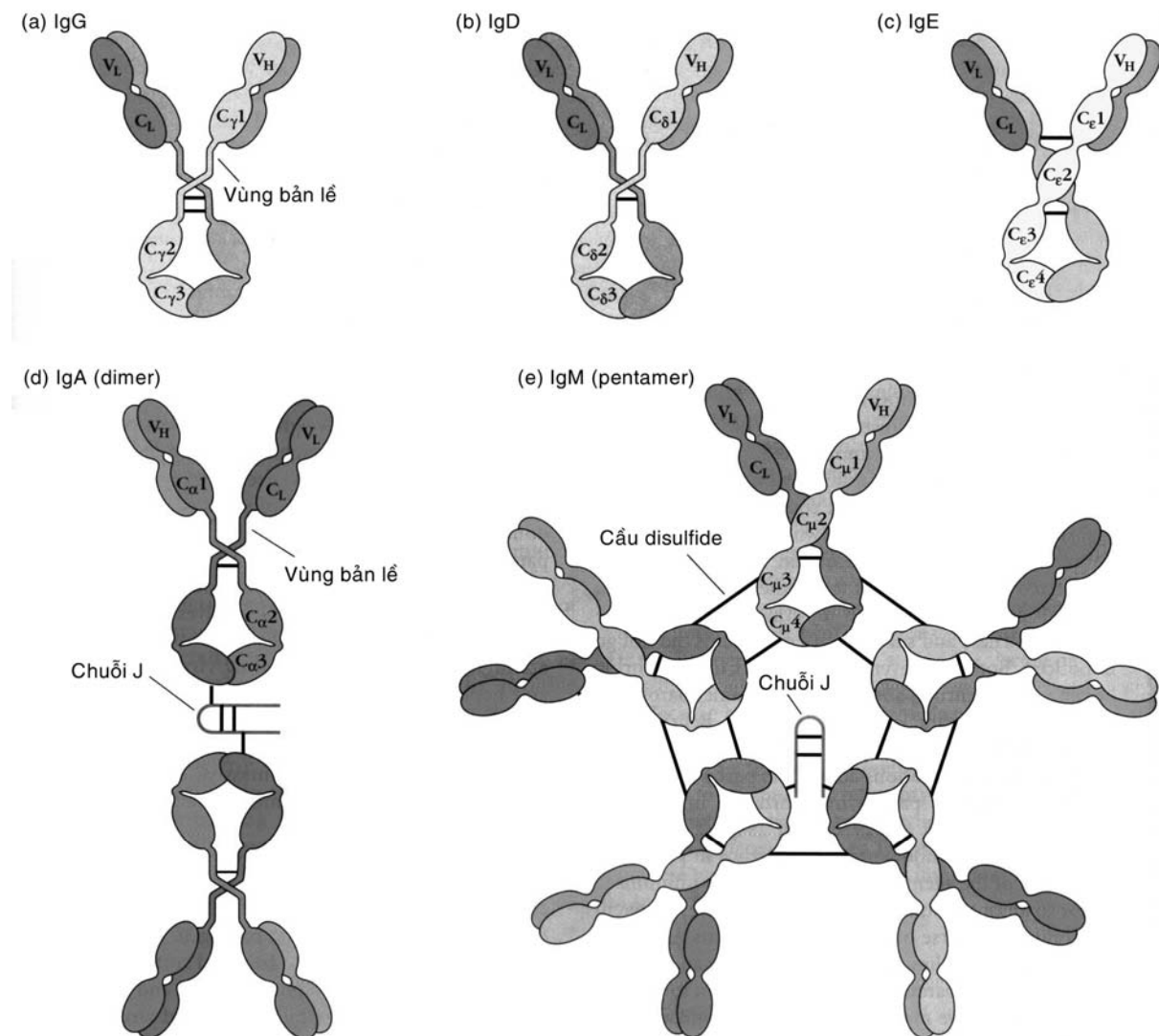
## 2. Các lớp kháng thể

Như đã đề cập ở phần trên, có 5 lớp kháng thể chính đã được xác định. Các lớp kháng thể được phân biệt với nhau bởi sự khác nhau về các đoạn acid amine đặc thù trong vùng hằng định chuỗi nặng tạo nên nó. Chính sự khác nhau ấy cung cấp các đặc tính cấu trúc và chức năng đặc thù cho từng lớp kháng thể và các dưới lớp của chúng. Cấu trúc của 5 lớp kháng thể chính được minh hoạ trong hình 5.4 và tính chất sinh học của chúng được liệt kê ở bảng 5.2.

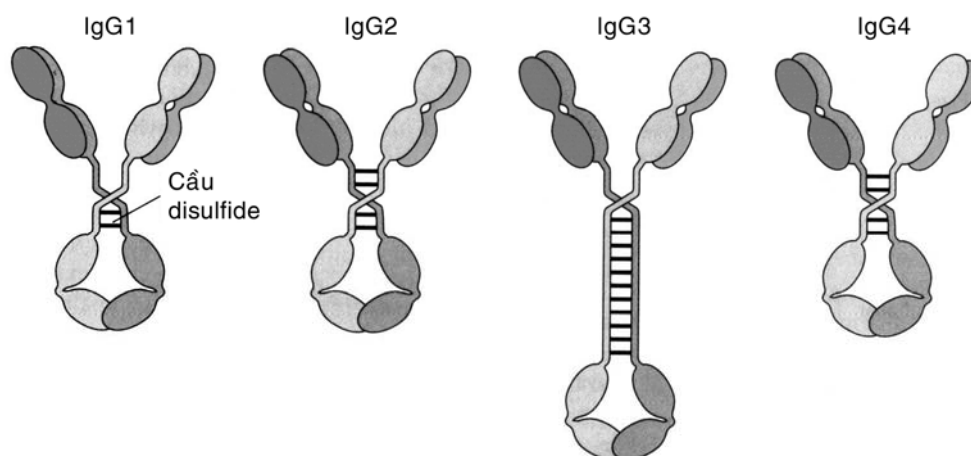
### 2.1. Kháng thể IgG

IgG có nồng độ cao nhất trong huyết thanh, chiếm khoảng 80% tổng lượng globulin miễn dịch trong huyết thanh. IgG cũng là lớp kháng thể chiếm tỷ lệ cao nhất trong dịch lympho, dịch não tủy và trong dịch ổ bụng. Phân tử IgG là một monomer gồm có hai chuỗi nặng  $\gamma$  (trọng lượng phân tử mỗi chuỗi ~50.000 Da) và hai chuỗi nhẹ hoặc  $\kappa$  hoặc  $\lambda$  (trọng lượng phân tử mỗi chuỗi ~25.000 Da) (hình 5.4-a). Trọng lượng phân tử của IgG khoảng 150.000 Da, hằng số lắng 7S, vì vậy IgG có thể thấy cả ở trong lòng mạch và ở ngoài lòng mạch. Có 4 lớp nhỏ IgG ở người được đánh dấu theo nồng độ giảm dần của chúng trong huyết thanh: IgG1 (9 mg/ml), IgG2 (3 mg/ml), IgG3 (1 mg/ml), và IgG4 (0,5 mg/ml). Bốn lớp nhỏ này được mã hoá bởi 4 gen vùng hằng định chuỗi nặng (gen  $C_H$ ) khác nhau mà có 90-95% trình tự DNA giống nhau. Đặc trưng cấu trúc để phân biệt lớp nhỏ này với lớp nhỏ khác là kích thước của vùng bản lề, số lượng cũng như vị trí của các cầu disulfide liên chuỗi nối các chuỗi nặng (hình 5.5). Sự khác biệt về acid amine giữa các lớp nhỏ của IgG đã làm cho hoạt tính sinh học của phân tử có những khác nhau.

- IgG1, IgG3 và IgG4 có thể chuyển vận dễ dàng qua nhau thai và đóng vai trò trong việc bảo vệ thai phát triển.
- Một số lớp nhỏ IgG có thể hoạt hoá bổ thể mặc dù hiệu quả của chúng khác nhau. Lớp nhỏ IgG3 hoạt hoá bổ thể hiệu quả nhất, tiếp theo là IgG1 rồi đến IgG2 còn IgG4 thì không có khả năng hoạt hoá bổ thể.
- IgG cũng hoạt động như một kháng thể opsonin tạo thuận cho hoạt động thực bào và tiêu diệt kháng nguyên, do chúng có thể gắn vào thụ thể dành cho Fc có trên bề mặt các tế bào làm nhiệm vụ thực bào. Tuy nhiên chức năng này cũng thay đổi tùy theo lớp nhỏ: IgG1 và IgG3 có ái lực cao với thụ thể dành cho Fc, trong khi IgG4 có ái lực yếu hơn và IgG2 có ái lực rất yếu.



**Hình 5.4: Cấu trúc tổng quát của 5 lớp kháng thể.** Chuỗi nặng của các kháng thể IgG, IgA và IgD có 4 domain và có vùng bản lề còn chuỗi nặng của các kháng thể IgM và IgE có 5 domain và không có vùng bản lề. Phân tử IgA dimer và IgM pentamer còn có thêm chuỗi polypeptide J nối 2 đơn phân vào nhau qua các cầu disulfide.



**Hình 5.5: Các lớp nhỏ IgG.** 4 lớp IgG được đánh dấu thứ tự theo nồng độ giảm dần.

## 2.2. Kháng thể IgM

IgM chiếm 5-10% tổng lượng globulin miễn dịch huyết thanh, có nồng độ khoảng 1,5 mg/ml. IgM monomer có trọng lượng phân tử 180.000 Da, xuất hiện ở trên bề mặt tế bào lympho B. Loại IgM này được phát hiện ở trên bề mặt của 90% số tế bào lympho B trong máu ngoại vi và có vai trò sinh học như một thụ thể dành cho kháng nguyên. IgM do tế bào plasma tiết ra có cấu tạo pentamer do 5 đơn vị monomer nối với nhau bởi các cầu disulfide giữa các domain của đầu C tận cùng chuỗi nặng ( $C\mu 4/C\mu 4$ ) và các domain  $C\mu 3/C\mu 3$  (hình 5.4-e). 5 đơn vị monomer này bố trí sao cho phần Fc quay về phía trung tâm của pentamer và 10 vị trí kết hợp kháng nguyên quay ra phía ngoại vi của pentamer. Mỗi một pentamer có thêm một chuỗi polypeptide được gọi là chuỗi J (joining) gắn với các gốc cysteine ở đầu C tận của 2 trong số 10 chuỗi nặng bằng cầu disulfide. Chuỗi J có vai trò trong quá trình polymer hoá các monomer để hình thành pentamer và nó được thêm vào ngay trước khi phân tử IgM pentamer được chế tiết.

IgM là lớp kháng thể đầu tiên xuất hiện trong đáp ứng lần đầu với một kháng nguyên và cũng là lớp kháng thể đầu tiên được tổng hợp ở trẻ sơ sinh. Cấu trúc pentamer của IgM đã làm cho lớp kháng thể này có một số tính chất riêng biệt. Khả năng kết hợp kháng nguyên của phân tử IgM tăng lên vì chúng có tới 10 vị trí kết hợp kháng nguyên. Một phân tử IgM có thể gắn với 10 hapten nhỏ; nhưng đối với những kháng nguyên lớn, do sự hạn chế về không gian nên IgM chỉ có thể gắn với 5 phân tử hoặc ít hơn trong cùng một thời điểm. Như vậy phân tử IgM có tính "háo" (hay tính "hám") kháng nguyên (avidity) cao hơn các loại kháng thể khác. Tính chất này của IgM đã tạo ra khả năng dễ kết hợp với các kháng nguyên đa chiều như các hạt virus và hồng cầu. Ví dụ, khi hồng cầu được ủ với các kháng thể đặc hiệu chúng sẽ ngưng kết lại với nhau. Để xảy ra cùng một mức ngưng kết thì lượng phân tử IgM cần thiết nhỏ hơn lượng phân tử IgG 100 đến 1.000 lần. Để trung hoà các hạt virus thì lượng IgM cũng cần ít hơn lượng IgG. IgM có hiệu quả hơn IgG trong việc hoạt hoá bổ thể. Lý do là sự hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển đòi hỏi phải có 2 vùng Fc của kháng thể nằm rất gần nhau, phân tử IgM có cấu trúc pentamer nên đã đáp ứng được điều này vì vậy chúng hoạt hoá bổ thể mạnh hơn IgG có cấu trúc monomer (xem bài Bổ thể).

Do có kích thước lớn - trọng lượng phân tử 900.000, hằng số lắng 19S - nên IgM chỉ có trong lòng mạch và có nồng độ rất thấp ở dịch gian bào. Sự có mặt của chuỗi J làm cho phân tử có thể kết hợp với các thụ thể trên tế bào tiết và được chuyển vận qua hàng rào biểu mô vào dịch tiết. Mặc dù IgA là lớp kháng thể chính có trong dịch tiết, nhưng IgM cũng hoạt động như một globulin miễn dịch tiết bổ sung.

## 2.3. Kháng thể IgA

Mặc dù IgA chỉ chiếm 10-15% tổng lượng kháng thể trong huyết thanh, nhưng nó là lớp kháng thể chính trong dịch ngoại tiết như nước bọt, nước mắt, dịch nhầy khí phế quản, đường tiết niệu sinh dục, đường tiêu hoá. Đặc biệt hơn nữa, IgA là kháng thể chính có trong sữa mẹ giúp bảo vệ trẻ sơ sinh trước các tác nhân gây bệnh đường ruột. Trong huyết thanh IgA tồn tại chủ yếu dưới dạng monomer, nhưng đôi khi cũng tồn tại dưới dạng polymer như dimer, trimer và cả tetramer. Các IgA dạng polymer đều có thêm chuỗi J gắn vào chúng (hình 5.4-d). IgA trong dịch ngoại tiết được gọi là IgA tiết, tồn tại dưới dạng dimer hoặc tetramer. Ngoài chuỗi J, IgA tiết còn có thêm một chuỗi polypeptide nữa được gọi là mảnh tiết gắn vào.

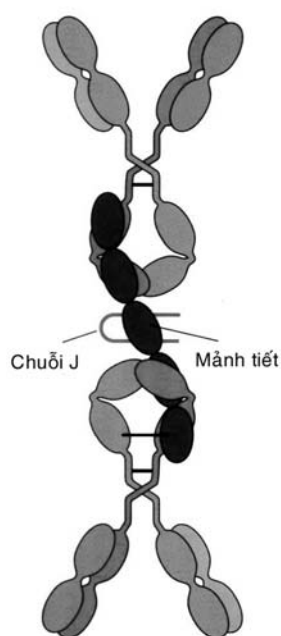
Chuỗi J của IgA giống với chuỗi J của IgM pentamer cần thiết cho quá trình polymer hoá của IgA huyết thanh lẫn IgA tiết. Mảnh tiết là một polypeptide 70.000 Da do tế bào biểu mô của màng nhầy tạo ra. Mảnh tiết có cấu tạo từ 5 domain hình cầu giống như domain của kháng thể và được gắn vào các domain ở vùng Fc của IgA dimer thông qua một cầu disulfide ở domain thứ năm của mảnh tiết với một chuỗi nặng của IgA dimer



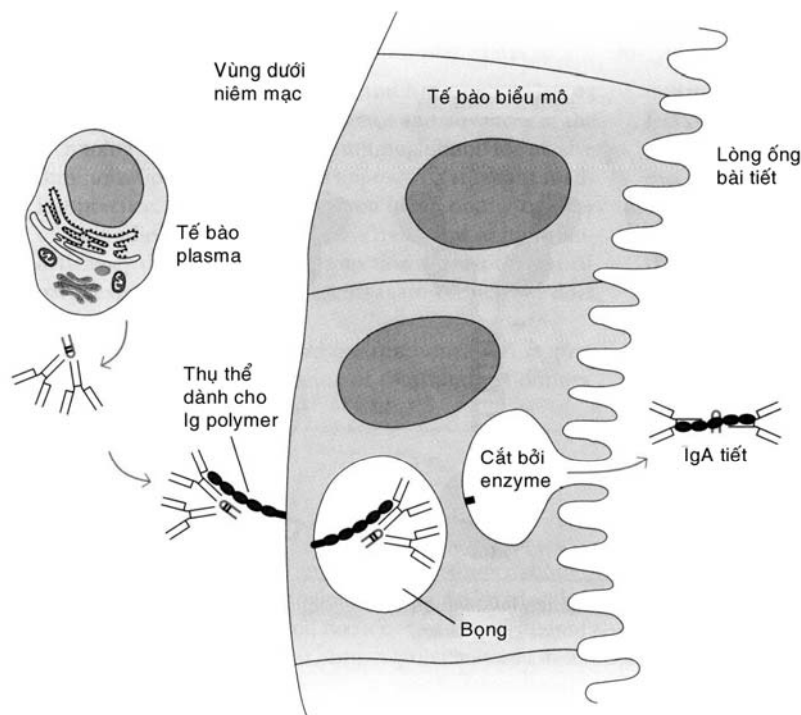
(hình 5.6-a). Mảnh tiết cần thiết cho sự chuyển vận IgA dimer qua tế bào biểu mô nhầy vào dịch tiết nhầy đồng thời bảo vệ phân tử IgA không bị tác dụng của các enzyme thủy phân protein có trong dịch tiết phân hủy.

Lượng IgA tiết được sinh ra trong mỗi ngày lớn hơn lượng của bất kỳ globulin miễn dịch nào khác. Tế bào plasma tiết IgA tập trung ở bề mặt màng nhầy. Ví dụ như dọc theo hồng tràng ruột non có khoảng  $2,5 \times 10^{10}$  tế bào plasma tiết IgA, lớn hơn số lượng tế bào plasma của tủy xương, hạch lympho và lách cộng lại. Mỗi ngày một người có thể tiết từ 5 đến 15 gam IgA tiết vào các dịch chế tiết.

(a) Cấu trúc IgA tiết



(b) Sự hình thành IgA tiết



**Hình 5.6: Cấu trúc và quá trình hình thành IgA tiết**

Các tế bào plasma sản xuất IgA có xu hướng di chuyển (tái định cư) vào khu vực dưới niêm mạc. IgA được tạo ra ở đây có thể gắn một cách chặt chẽ với thụ thể dành cho phân tử globulin miễn dịch dạng polymer (poly-Ig receptor) có ở phía màng đáy của các tế bào biểu mô nhầy (ví dụ biểu mô đường tiêu hoá, hô hấp, tiết niệu sinh dục) hoặc biểu mô tuyến chế tiết (tuyến sữa, tuyến nước bọt, tuyến lệ) (hình 5.6-b). Sau khi kháng thể đã bám vào thụ thể thì phức hợp thụ thể-IgA sẽ được nhấn chìm về phía bào tương và nằm trong một bọng rồi được chuyển vận qua tế bào tới mặt phía trong lòng ống. Tại đây bọng sẽ liên hợp với màng plasma, sau đó thụ thể được phân cắt bởi enzyme và một phần thụ thể sẽ trở thành mảnh tiết. Mảnh tiết này được gắn vào và được giải phóng cùng với phân tử IgA dimer vào dịch tiết. Mảnh tiết che đậy các vị trí dễ bị enzyme thủy phân protein tấn công ở vùng bản lề của IgA vì thế có tác dụng bảo vệ phân tử IgA tiết trong môi trường giàu enzyme thủy phân protein như các dịch tiết. Thụ thể dành cho globulin miễn dịch polymer đã nhận dạng chuỗi J. Vì vậy, ngoài IgA tiết thì IgM pentamer cũng có chuỗi J nên cũng được chuyển vận vào dịch tiết nhầy theo cùng cơ chế này mặc dù IgM có tỷ lệ thấp hơn IgA trong dịch tiết.

**Bảng 5.2: Đặc điểm và hoạt tính sinh học của các lớp và lớp nhỏ kháng thể**

Đặc điểm	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM	IgE	IgD
Chuỗi nặng	$\gamma 1\gamma 1$	$\gamma 2\gamma 2$	$\gamma 3\gamma 3$	$\gamma 4\gamma 4$	$\alpha 1\alpha 1$	$\alpha 2\alpha 2$	$\mu\mu$	$\epsilon\epsilon$	$\delta\delta$
Chuỗi nhẹ	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$	$\kappa\kappa$ hoặc $\lambda\lambda$
Dạng phân tử	monomer	monomer	monomer	monomer	Monomer hoặc dimer	Monomer hoặc dimer	Monomer hoặc pentamer	monomer	monomer
Trọng lượng phân tử (Da)	150.000	150.000	150.000	150.000	150.000- 600.000	150.000- 600.000	900.000	190.000	150.000
Nồng độ trong huyết thanh (mg/ml)	9	3	1	0,5	3,0	0,5	1,5	0,0003	0,03
Thời gian bán huỷ trong huyết thanh <i>in vivo</i> (ngày)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển	+	+/-	++	-	-	-	+++	-	-
Chuyển qua nhau thai	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-
Có mặt trên màng các tế bào lympho B chín	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Gắn vào thụ thể của tế bào thực bào dành cho Fc của kháng thể	++	+/-	++	+	-	-	?	-	-
Vận chuyển qua màng nhầy	-	-	-	-	++	++	+	-	-
Gây thoát bọng các tế bào mast	-	-	-	-	-	-	-	+	-

**Ghi chú:** Mức độ hoạt tính ++ = mạnh; + = vừa; +/- = yếu; - = không có hoạt tính; ? = hoạt tính chưa rõ

IgA tiết còn có một chức năng hết sức quan trọng trong việc sinh ra miễn dịch tại chỗ của đường tiêu hoá, đường hô hấp, tiết niệu sinh dục vì đây là những con đường chính để phần lớn các vi sinh vật gây bệnh xâm nhập vào cơ thể. Do có cấu tạo polymer nên IgA tiết có thể liên kết chéo các kháng nguyên kích thước lớn và có nhiều quyết định kháng nguyên. IgA tiết gắn với các cấu trúc của bề mặt vi khuẩn hoặc virus và ngăn cản các vi sinh vật này không cho chúng gắn vào tế bào nhầy, vì vậy IgA tiết có tác dụng ngăn cản sự nhiễm virus và ức chế quá trình xâm nhập của vi khuẩn. Các phức hợp kháng nguyên-IgA tiết dễ dàng bị giữ lại ở trong dịch nhầy và sau đó bị loại bỏ bởi các tế bào biểu mô có lông chuyển của đường hô hấp hoặc bởi nhu động của ruột. Người ta đã chứng minh được IgA tiết vai trò đề kháng quan trọng chống các vi khuẩn như *Salmonella*, *Vibrio cholerae* và *Neisseria gonorrhoeae* và các virus như bại liệt, cúm và các reovirus.

## 2.4. Kháng thể IgD

Phân tử IgD có hai chuỗi nặng delta ( $\delta\delta$ ) và hai chuỗi nhẹ (hoặc  $\kappa\kappa$  hoặc  $\lambda\lambda$ ) được nối với nhau bằng các cầu liên chuỗi, trong đó có hai cầu liên chuỗi nối chuỗi nặng với chuỗi nhẹ và một cầu nối chuỗi nặng với chuỗi nặng. Trọng lượng phân tử 180.000 Da, hằng số lắng là 7S.

IgD được phát hiện lần đầu tiên ở một bệnh nhân bị bệnh đa u tủy mà protein đa u tủy của bệnh nhân này không phản ứng với kháng huyết thanh kháng isotype đã biết lúc đó là IgG, IgM và IgA. Nếu lấy protein đa u tủy này gây miễn dịch cho thỏ thì thu được kháng huyết thanh phản ứng với một lớp kháng thể mới có trong huyết thanh người bình thường với nồng độ thấp. Lớp kháng thể này được gọi là IgD có nồng độ khoảng 30  $\mu\text{g/ml}$  huyết thanh, chiếm 0,2% tổng lượng globulin miễn dịch huyết thanh. Cho đến nay người ta chưa rõ hết chức năng sinh học của IgD. IgD xuất hiện cùng với IgM trên bề mặt các tế bào lympho B chín và được coi như là một marker chỉ điểm tế bào lympho B chín. Giống như IgM, IgD trên bề mặt tế bào lympho B cũng đóng vai trò là thụ thể của tế bào lympho B dành cho kháng nguyên.

## 2.5. Kháng thể IgE

Mặc dù IgE có nồng độ trong huyết thanh rất nhỏ (chỉ 0,3  $\mu\text{g/ml}$ ) nhưng người ta vẫn có thể nhận biết được qua hoạt động sinh học rất mạnh của chúng. Các kháng thể IgE gây ra các phản ứng quá mẫn tức thì với những triệu chứng gặp trong sốt rôm, hen, mày đay, và sốc phản vệ. Năm 1921 Prausnitz và Kustner là những người đầu tiên chứng minh rằng có một thành phần trong huyết thanh gây ra các phản ứng dị ứng. Các tác giả đã lấy huyết thanh của một người bị dị ứng tiêm trong da cho một người không bị dị ứng, sau đó tiêm kháng nguyên thích hợp vào cùng vị trí tiêm huyết thanh thì thấy xuất hiện một quầng đỏ và sưng (giống như mày đay). Phản ứng này được đặt tên là phản ứng P-K (viết tắt của hai chữ Prausnitz và Kustner là những tác giả của phản ứng này). Đây là thử nghiệm sinh học đầu tiên để phát hiện hoạt tính của IgE.

Năm 1966 hai vợ chồng nhà khoa học Ishizaka đã phát hiện một cách đích thực sự có mặt của IgE trong huyết thanh. Họ lấy huyết thanh từ một cơ thể bị dị ứng gây miễn dịch cho thỏ để thu được kháng huyết thanh. Sau đó cho phản ứng với từng lớp kháng thể của người đã biết vào thời điểm đó, đó là IgG, IgA, IgM và IgD. Bằng cách này các kháng thể kháng IgG, IgA, IgM và IgD sẽ bị rửa cùng với kháng nguyên tương ứng và được loại bỏ khỏi huyết thanh thỏ. Phần còn lại của kháng huyết thanh sau rửa đặc hiệu với một lớp kháng thể chưa biết và phong bế hoàn toàn phản ứng P-K. Kháng thể mới này được đặt tên là globulin miễn dịch E (IgE) (chữ E bắt nguồn từ kháng nguyên E của một loại phấn hoa có khả năng kích thích sinh ra lớp kháng thể này rất mạnh).

Phân tử IgE gồm hai chuỗi nặng epsilon ( $\epsilon\epsilon$ ) và hai chuỗi nhẹ (hoặc  $\kappa\kappa$  hoặc  $\lambda\lambda$ ). Mỗi phân tử IgE có hai cầu disulfide nối chuỗi nặng với chuỗi nhẹ và hai cầu disulfide nối chuỗi nặng với chuỗi nặng. Trọng lượng phân tử 190.000, hằng số lắng 8S, thời gian bán phân huỷ khoảng 2-3 ngày. IgE rất dễ bị biến tính khi xử lý bằng các tác nhân khử hoặc bằng nhiệt. Ví dụ ở 56 °C trong 30 phút thì IgE đã bị biến tính.

IgE gắn với các thụ thể dành cho Fc trên bề mặt bạch cầu ái kiềm ở máu ngoại vi và tế bào mast ở mô. Sau khi đã gắn lên bề mặt các tế bào này thì các vị trí kết hợp kháng nguyên ở phần Fab của IgE vẫn có thể gắn với kháng nguyên và kháng nguyên sẽ nối các phân tử IgE kề nhau lại. Sự liên kết chéo của các phân tử IgE đã gắn với thụ thể bởi kháng nguyên (dị nguyên) đã dẫn đến hiện tượng thoát bọng của bạch cầu ái kiềm và tế bào mast làm giải phóng các chất trung gian hoá học như serotonin, histamine. Các chất trung gian hoạt mạch này gây tăng tính thấm mao mạch giúp cho các kháng thể trong máu và các đại thực bào dễ dàng lọt qua thành mạch để đến những nơi mà kháng nguyên có thể xâm nhập vào cơ thể (da, niêm mạc). Do tác dụng làm tăng tính thấm mao mạch mà hệ thống IgE - tế bào mast - các amine hoạt mạch được ví như “người canh cửa” tại những nơi mà kháng nguyên có thể vào cơ thể. Tuy nhiên khi hiện tượng thoát bọng xảy ra quá mạnh, lượng amine hoạt mạch được giải phóng quá nhiều và rối loạn thì sẽ làm xuất hiện các triệu chứng dị ứng (xem bài Quá mẫn).

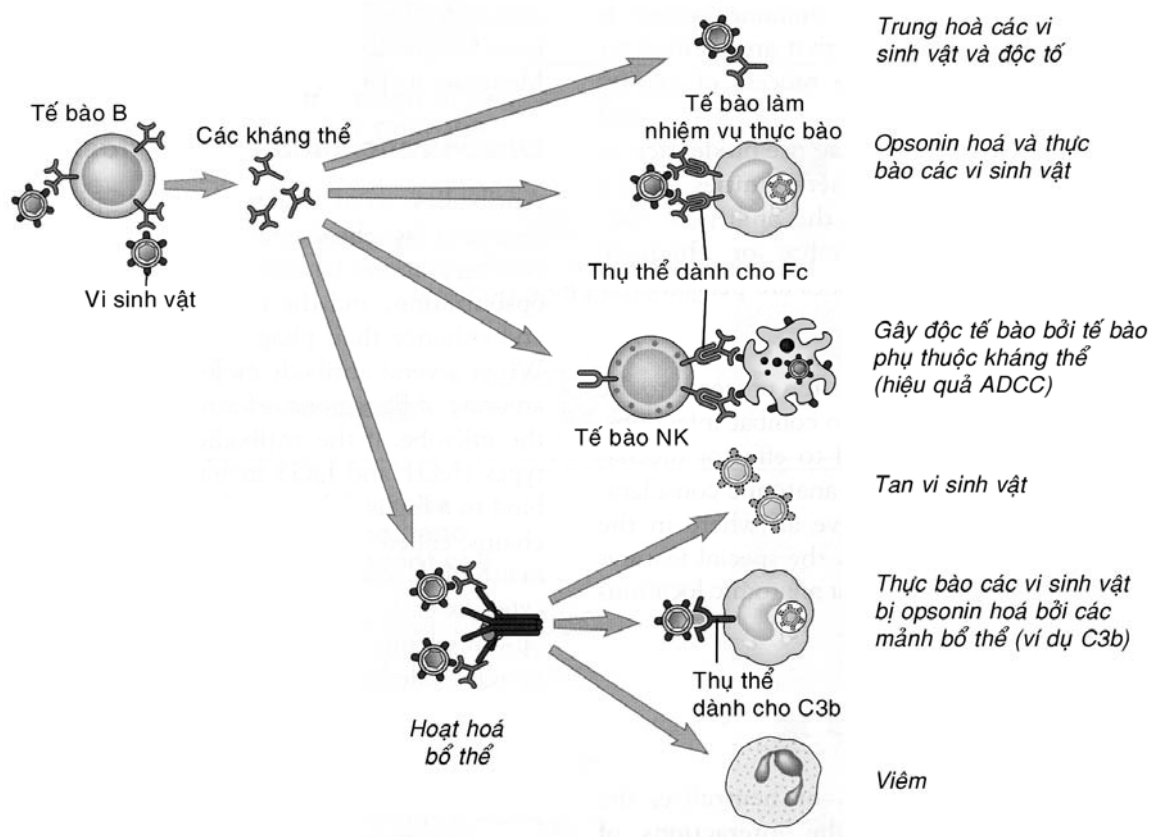
Người ta thấy IgE tăng cao song hành với tăng số lượng bạch cầu ái toan ở người nhiễm ký sinh trùng. Vai trò của IgE trong miễn dịch chống giun sán được thực hiện bằng cách IgE đặc hiệu với kháng nguyên của giun sán bám lên giun sán. Bạch cầu ái toan có thụ thể dành cho Fc của IgE qua đó có thể tiếp cận giun sán đã bị phủ kháng thể IgE. Sau khi tiếp cận được giun sán, bạch cầu ái toan tiết các chất độc chứa trong các hạt ở bào tương của bạch cầu ái toan về phía giun sán làm tê liệt và tiêu diệt giun sán (Xem bài Miễn dịch trong nhiễm vi sinh vật). Hiện tượng này giống như hiệu quả ADCC do tế bào NK và kháng thể IgG thực hiện (xem bài Đáp ứng miễn dịch dịch thể), có điều trong trường hợp này là gây độc giun sán bởi bạch cầu ái toan phụ thuộc kháng thể IgE.

### 3. Chức năng sinh học của kháng thể

Ngoài việc gắn vào kháng nguyên, các kháng thể tham gia vào hàng loạt các hoạt tính sinh học khác. Để tiêu diệt được vi sinh vật, các kháng thể không chỉ nhận diện kháng nguyên vi sinh vật mà còn phải khởi động các đáp ứng khác để giết vi sinh vật và loại bỏ kháng nguyên. Vùng biến đổi của phân tử kháng thể đảm nhiệm việc gắn vào kháng nguyên còn vùng hằng định của chuỗi nặng sẽ tương tác với các protein, tế bào và mô khác để tạo ra các chức năng thực hiện của đáp ứng miễn dịch dịch thể tiêu diệt kháng nguyên. Vì các chức năng thực hiện là kết quả của tương tác giữa các vùng hằng định của chuỗi nặng với các protein khác trong huyết thanh hoặc các thụ thể trên màng tế bào, trong khi chuỗi nặng của các lớp kháng thể lại có cấu trúc khác nhau, nên không phải tất cả các lớp kháng thể đều có chung các hoạt tính chức năng. Có những chức năng nhiều lớp kháng thể có trong khi đó có những chức năng đặc thù cho từng lớp kháng thể. Dưới đây là một số chức năng quan trọng của kháng thể.

#### 3.1. Trung hoà vi sinh vật và độc tố

Khi vi sinh vật thâm nhập vào cơ thể, kháng thể bám vào vi sinh vật ngăn cản hoặc trung hoà khả năng lây nhiễm của vi sinh vật vào tế bào. Hầu hết các vi sinh vật sử dụng các phân tử trên vỏ hoặc trên thành của chúng để gắn và sau đó thâm nhập vào tế bào của vật chủ. Các kháng thể có thể gắn vào các phân tử này ngăn không cho vi sinh vật lây nhiễm vào tế bào. Như vậy vi sinh vật đã bị trung hoà mất khả năng lây nhiễm của chúng (hình 5.7, xem chi tiết trong bài Đáp ứng miễn dịch dịch thể).



Hình 5.7: Một số chức năng sinh học của kháng thể

### 3.2. Opsonin hoá tạo thuận cho hoạt động thực bào

Trên bề mặt các đại thực bào và bạch cầu trung tính có các phân tử thụ thể dành cho Fc có khả năng gắn vào vùng Fc của phân tử kháng thể. Khi một kháng nguyên (ví dụ một tế bào vi khuẩn) đã bị các phân tử kháng thể đặc hiệu gắn vào thì các tế bào thực bào này có thể gián tiếp tiếp cận kháng nguyên thông qua phân tử kháng thể. Nhờ đó các kháng nguyên dễ bị thực bào và phá hủy bởi các tế bào làm nhiệm vụ thực bào (xem chi tiết trong bài Đáp ứng miễn dịch dịch thể).

### 3.3. Gây độc tế bào bởi tế bào phụ thuộc kháng thể

Các tế bào như tế bào NK có các thụ thể trên màng dành cho Fc của một số lớp kháng thể. Các tế bào này có thể sử dụng thụ thể ấy để tiếp cận các tế bào mang các kháng nguyên lạ như tế bào ung thư hoặc tế bào nhiễm virus đã bị phủ kháng thể đặc hiệu với những kháng nguyên đó. Thay vì là nuốt như các đại thực bào trong hiện tượng opsonin hoá và thực bào thì tế bào NK tiếp cận tế bào đích bị phủ kháng thể, sau đó giải phóng các enzyme chứa trong các hạt về phía tế bào đích gây độc cho tế bào này. Hiện tượng này được gọi là gây độc tế bào bởi tế bào phụ thuộc kháng thể (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity hay antibody-dependent cellular cytotoxicity và thường được gọi tắt là hiệu quả ADCC) trong đó tế bào NK gây độc tế bào đích và cần có kháng thể để xác định tế bào đích nào bị tiêu diệt (xem chi tiết trong bài Đáp ứng miễn dịch dịch thể).

### 3.4. Hoạt hoá bổ thể

IgM và hầu hết các lớp nhỏ IgG có thể hoạt hoá bổ thể theo con đường cổ điển sau khi các kháng thể đã gắn vào kháng nguyên tạo thành phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Khi

bổ thể được hoạt hoá sẽ gây ra các hoạt tính như tan kháng nguyên bởi bổ thể, opsonin hoá bởi bổ thể tạo thuận cho hoạt động thực bào, hấp dẫn hoá học lôi kéo các tế bào viêm tới nơi có nhiễm trùng, loại bỏ phức hợp kháng nguyên-kháng thể gắn C3b bởi đại thực bào ở lách hoặc gan... Như vậy thông qua hoạt hoá bổ thể kháng thể đã gián tiếp gây ra được hàng loạt các chức năng thực hiện khác (xem chi tiết trong các bài Bổ thể và bài Đáp ứng miễn dịch dịch thể).

### 3.5. Ngưng tập và kết tủa kháng nguyên

Mỗi phân tử kháng thể có ít nhất là hai vị trí gắn kháng nguyên và mỗi kháng nguyên thường có nhiều hơn hai quyết định kháng nguyên. Vì thế khi các phân tử kháng thể gắn vào kháng nguyên sẽ xảy ra khả năng một phân tử kháng thể gắn vào hai quyết định kháng nguyên trên hai phân tử kháng nguyên khác nhau. Kết quả là tạo thành mạng lưới phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Với kháng nguyên hữu hình mạng lưới này có dạng như đám ngưng tập các kháng nguyên còn với kháng nguyên hoà tan thì mạng lưới này trở nên không hoà tan và hình thành đám kết tủa của kháng nguyên và kháng thể (xem bài Các phản ứng giữa kháng nguyên và kháng thể).

### 3.6. Chuyển qua nhau thai và thành ruột từ mẹ sang con

Hầu hết các lớp nhỏ IgG có khả năng chuyển từ máu mẹ qua nhau thai sang con, cung cấp khả năng đề kháng cho thai nhi và trẻ sơ sinh những ngày đầu sau khi mới ra đời. Việc vận chuyển IgG qua nhau thai được thực hiện nhờ các thụ thể dành cho Fc có kí hiệu là FcRn (neonatal Fc receptor) trên màng các tế bào của nhau thai. Thụ thể này gắn vào Fc của IgG và vận chuyển chúng qua nhau thai sang cho thai nhi. Điều thú vị là các thụ thể này còn bộc lộ cả ở các mô của đường tiêu hoá của trẻ sơ sinh trong một thời gian ngắn khoảng 2 tuần, vì thế các kháng thể IgG trong sữa non của người mẹ cũng sẽ được chuyển sang cho con thông qua các thụ thể FcRn ở ruột, cung cấp thêm khả năng miễn dịch thụ động cho trẻ sơ sinh.

## 4. Các quyết định kháng nguyên trên phân tử kháng thể

Do các kháng thể là các phân tử glycoprotein nên bản thân chúng cũng có thể hoạt động như một chất sinh miễn dịch để kích thích sinh ra một đáp ứng tạo kháng thể. Người ta chia các quyết định kháng nguyên trên phân tử kháng thể thành ba loại chính: các quyết định isotype, các quyết định allotype và các quyết định idiotypic. Các quyết định này được định vị trên các vị trí đặc trưng của phân tử kháng thể.

### 4.1. Các quyết định isotype

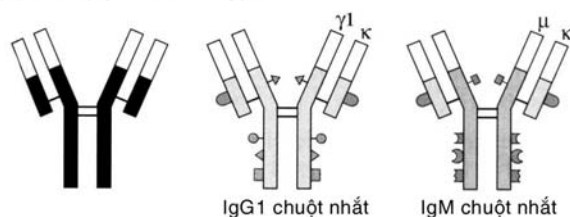
Các quyết định isotype nằm trên vùng hằng định cho phép phân biệt các chuỗi nặng của các lớp và các lớp nhỏ kháng thể khác nhau, và phân biệt các týp và các týp nhỏ của các chuỗi nhẹ trong một loài nhất định. Mỗi một quyết định isotype được mã hoá bởi một gen của vùng hằng định riêng biệt và tất cả các cá thể trong cùng một loài đều có cùng các gen vùng hằng định mã hoá các quyết định này. Trong cùng một loài, từng cá thể sẽ biểu hiện tất cả các quyết định isotype trong huyết thanh của chúng. Các loài khác nhau được di truyền các gen của vùng hằng định khác nhau và bởi vậy chúng có các isotype khác nhau. Do đó khi lấy globulin miễn dịch của loài này tiêm vào loài khác thì các quyết định isotype sẽ được nhận diện như là lạ và kích thích sinh ra đáp ứng tạo kháng thể chống lại các quyết định isotype của phân tử globulin miễn dịch lạ. Các kháng thể kháng isotype thường được sử dụng để xác định các lớp hoặc các lớp nhỏ của globulin miễn dịch trong huyết thanh hoặc xác định lớp kháng thể gắn trên bề mặt tế bào lympho B.

## 4.2. Các quyết định allotype

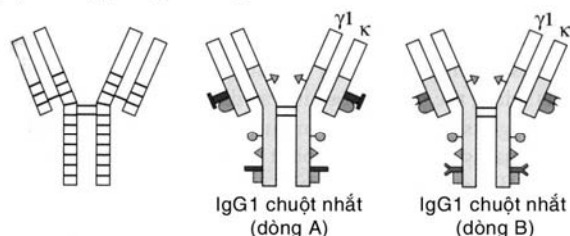
Mặc dù tất cả các cá thể trong cùng một loài thừa hưởng cùng một loại bộ gen isotype nhưng lại có một số gen allele khác nhau giữa các cá thể. Những gen allele này mã hoá một số đoạn peptide có trình tự các acid amine khác nhau, người ta gọi đó là các quyết định allotype. Các quyết định này chỉ xuất hiện ở một số chứ không phải là tất cả các thành viên của một loài. Ở người đã xác định được allotype của 4 lớp nhỏ IgG, 1 lớp nhỏ IgA và chuỗi nhẹ  $\kappa$ . Các quyết định allotype của chuỗi  $\gamma$  được ký hiệu là Gm. Cho đến nay đã nhận dạng được 25 loại quyết định allotype Gm, chúng được ký hiệu bằng chữ G (viết tắt của chữ gamma) sau đó là số thứ tự lớp nhỏ rồi đến số thứ tự allotype [ví dụ G1m(1), G2m(23), G3m(11), G4m(4a)]. Người ta chỉ mới xác định được allotype của lớp nhỏ IgA2 được ký hiệu là A2m(1) và A2m(2). Chuỗi nhẹ  $\kappa$  có 3 quyết định allotype được ký hiệu là km(1), km(2), và km(3). Mỗi allotype này có sự khác nhau từ 1 đến 4 acid amine được mã hoá bởi các gen allele khác nhau.

Các kháng thể chống các quyết định allotype có thể thu được bằng cách tiêm các globulin miễn dịch của một cá thể này cho một cá thể khác trong cùng loài không có các quyết định allotype tương ứng. Kháng thể kháng allotype cũng có thể xuất hiện ở người phụ nữ trong quá trình mang thai khi đáp ứng với quyết định allotype của người chồng có trên phân tử globulin miễn dịch của người con. Kháng thể kháng allotype cũng có thể xuất hiện sau khi truyền máu.

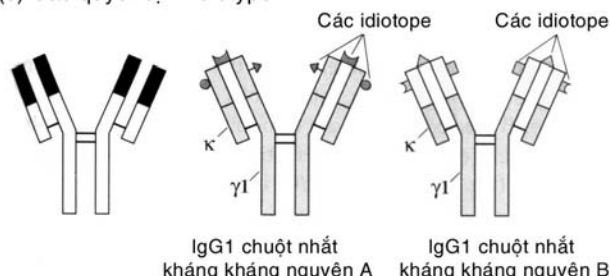
(a) Các quyết định isotype



(b) Các quyết định allotype



(c) Các quyết định idiotype



**Hình 5.8: Các quyết định kháng nguyên trên phân tử kháng thể.** Vị trí của các quyết định kháng nguyên ấy trên phân tử kháng thể được biểu thị ở hình bên trái; ở giữa và bên phải là 2 ví dụ về loại quyết định kháng nguyên này.

## 4.3. Các quyết định idiotype

Trình tự các acid amine có duy nhất ở vùng  $V_H$  và  $V_L$  của một phân tử kháng thể biết trước có thể hoạt động không chỉ như một vị trí kết hợp kháng nguyên mà còn hoạt động như một quyết định kháng nguyên. Các quyết định idiotype được sinh ra do các vùng thay

đổi của chuỗi nặng và chuỗi nhẹ hình thành một cấu trúc đặc biệt về không gian. Mỗi một kháng nguyên riêng lẻ của vùng thay đổi được xem như là một quyết định idiotypic hay còn gọi là idiotope (xem hình 5.8-c). Trong một số trường hợp idiotope có thể là một vị trí kết hợp kháng nguyên thực sự, nhưng trong một số trường hợp một idiotope cũng có thể là một đoạn của vùng thay đổi nằm ngoài vị trí kết hợp kháng nguyên. Mỗi phân tử kháng thể sẽ có nhiều idiotope. Tất cả các idiotope của một phân tử kháng thể sẽ tạo ra hình ảnh idiotypic của kháng thể đó.

Bởi vì các kháng thể do các tế bào lympho B nằm trong cùng một clon sản xuất ra có vùng thay đổi giống hệt nhau nên chúng có cùng một hình ảnh idiotypic. Các kháng thể kháng idiotypic được tạo ra bằng cách thu hẹp đến mức tối thiểu sự khác biệt isotype hoặc allotype để đến mức có thể nhận dạng được sự khác biệt idiotypic. Thông thường có thể sử dụng một kháng thể thuần khiết như protein u tuỷ hoặc một kháng thể đơn clon. Tiêm kháng thể này cho một cơ thể nhận đồng gen thì sẽ hình thành được kháng thể kháng idiotypic. Một trong những thí nghiệm sớm nhất để chứng minh sự có mặt của các quyết định idiotypic là thí nghiệm của Oudin và Michel tại viện Pasteur Paris năm 1963. Các tác giả này đã tiêm kháng thể của thỏ kháng *Salmonella* vào một con thỏ khác cùng nhóm allotype. Thỏ được tiêm đã sản sinh ra kháng thể có khả năng kết hợp được với kháng thể đã dùng để gây miễn dịch mà không kết hợp với những kháng thể của chính con thỏ đó kháng lại các kháng nguyên khác và cũng không kết hợp với kháng thể của những con thỏ khác kháng lại *Salmonella*.

## 5. Kháng thể đa clon và kháng thể đơn clon

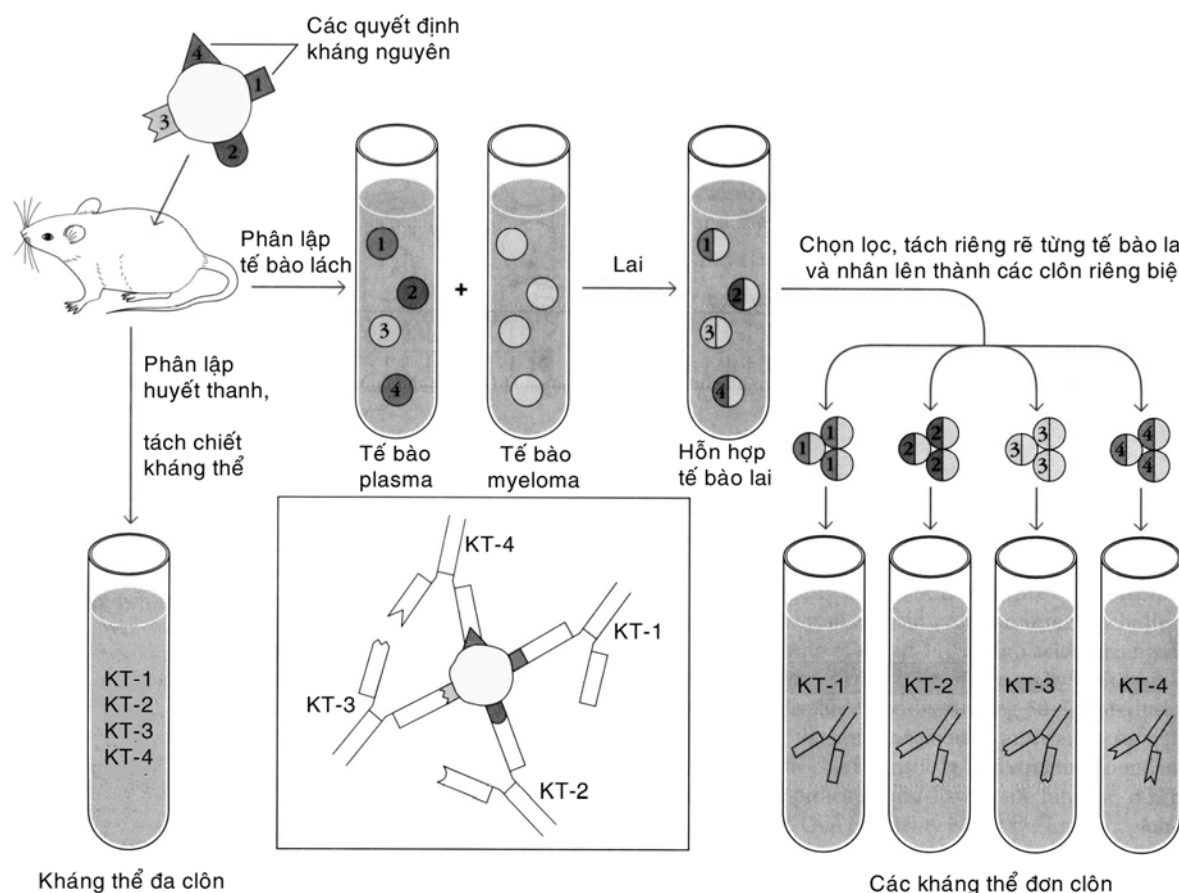
Như đã trình bày trong bài kháng nguyên, mỗi kháng nguyên thường có nhiều quyết định kháng nguyên và do vậy có thể kích thích tăng sinh và biệt hoá nhiều tế bào lympho B khác nhau (trong đó mỗi tế bào lympho B đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên) thành nhiều clon tế bào plasma tạo kháng thể. Vì thế các kháng thể được tạo ra trong huyết thanh là một hỗn hợp kháng thể do nhiều clon tế bào plasma chế tiết, mỗi clon đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên khác nhau. Loại kháng thể này được gọi là kháng thể đa clon (polyclonal antibody). Nếu tách riêng được từng tế bào lympho B đặc hiệu với từng quyết định kháng nguyên riêng biệt cho nhân lên thành từng clon tế bào plasma riêng rẽ chúng ta sẽ có các chế phẩm kháng thể được tạo ra bởi chỉ một clon tế bào plasma đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên duy nhất. Loại kháng thể ấy được gọi là kháng thể đơn clon (monoclonal antibody) (hình 5.9).

Kháng thể đa clon có tác dụng khu trú, opsonin hoá tạo thuận cho hoạt động thực bào và tham gia hoạt hoá bổ thể làm tan kháng nguyên rất tốt, và do vậy có tác dụng tốt bảo vệ cơ thể *in vivo*. Tuy nhiên, do tính phản ứng chéo với các quyết định kháng nguyên giống nhau hoặc gần giống nhau trên các kháng nguyên khác nhau, nên khi sử dụng kháng thể đa clon cho mục đích chẩn đoán dễ dẫn đến dương tính giả cho kết quả nhầm lẫn; hoặc khi dùng cho mục đích điều trị thì sẽ không có tính chọn lọc cao (chẳng hạn muốn tiêu diệt tế bào bệnh lại ảnh hưởng cả tế bào lành). Vì thế trong nghiên cứu, chẩn đoán *in vitro* và điều trị chọn lọc thì các kháng thể đơn clon có ưu điểm hơn và thường được sử dụng hơn.

Việc tách chiết và tinh chế các kháng thể đơn clon từ một hỗn hợp kháng thể đa clon là điều không thể thực hiện được. Năm 1975 Kohler và Milstein đưa ra phương pháp sản xuất kháng thể đơn clon, sau đó đã trở thành một công nghệ mấu chốt của miễn dịch học. Kháng thể đơn clon được tạo ra bằng cách lai tế bào plasma sinh kháng thể với tế bào myeloma (một loại tế bào ung thư) tạo ra tế bào lai mang đặc điểm của cả hai loại tế bào trên là: vừa có khả năng sống mãi (do đặc điểm của tế bào ung thư) vừa chế tiết kháng thể (do đặc điểm của tế bào plasma). Tế bào lai ấy có thể nhân lên thành một clon với số lượng không hạn chế và chúng ta sẽ có một lượng lớn kháng thể đơn clon đặc hiệu với một



quyết định kháng nguyên. Các kháng thể đơn clon này có thể dùng cho nghiên cứu, chẩn đoán và điều trị với độ đặc hiệu và tính chọn lọc cao. Với đóng góp này hai nhà khoa học đã được trao giải Nobel y học năm 1984. Chi tiết phương pháp sản xuất kháng thể đơn clon được trình bày trong phần Các kỹ thuật miễn dịch.



**Hình 5.9: Kháng thể đa clon và kháng thể đơn clon.** Huyết thanh động vật được gây miễn dịch với một kháng nguyên phức tạp có nhiều quyết định kháng nguyên chứa một hỗn hợp kháng thể do nhiều clon tế bào plasma tạo ra phản ứng với nhiều quyết định kháng nguyên khác nhau. Ngược lại, mỗi kháng thể đơn clon được tạo ra bởi một clon tế bào plasma đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên duy nhất.

## Tóm tắt

- Kháng thể tồn tại dưới hai dạng là kháng thể chế tiết do các tế bào plasma tạo ra và kháng thể gắn màng có trên bề mặt các tế bào lympho B đóng vai trò là thụ thể của tế bào lympho B dành cho kháng nguyên.
- Cấu trúc cơ bản của một phân tử kháng thể gồm có 2 chuỗi nặng và 2 chuỗi nhẹ được nối với nhau bằng các cầu disulfide. Mỗi chuỗi nặng và chuỗi nhẹ đều có chứa một vùng biến đổi gồm 110 acid amine ở đầu N tận và phần còn lại của các chuỗi là các vùng hằng định.
- Chuỗi nặng của một phân tử kháng thể bất kỳ nào đó chỉ thuộc về một trong năm loại chuỗi nặng căn bản là  $\mu$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  hoặc  $\epsilon$ , còn chuỗi nhẹ thì thuộc một trong hai loại - hoặc là  $\kappa$  hoặc là  $\lambda$ . Các chuỗi nặng khác nhau định ra 5 lớp kháng thể khác nhau thực hiện các chức năng khác nhau là IgM, IgG, IgD, IgA và IgE.

- Các đoạn acid amine có khả năng biến đổi không phân bố một cách ngẫu nhiên khắp vùng biến đổi mà được tập trung vào một số vùng siêu biến hay các vùng xác định bổ cứu (CDR). Những vùng này tạo nên vị trí kết hợp kháng nguyên của phân tử kháng thể và quyết định tính đặc hiệu kháng nguyên của phân tử kháng thể.
- Chức năng sinh học của kháng thể là gắn vào kháng nguyên để trung hoà và loại bỏ kháng nguyên. Vùng biến đổi của phân tử kháng thể đảm nhiệm việc gắn vào kháng nguyên còn vùng hằng định của chuỗi nặng sẽ tương tác với các protein, tế bào và mô khác để tạo ra các chức năng thực hiện của đáp ứng miễn dịch dịch thể tiêu diệt kháng nguyên.
- Bản thân kháng thể khi được đưa vào cơ thể khác cũng có thể hoạt động như một chất sinh miễn dịch hay một kháng nguyên. Các quyết định kháng nguyên trên phân tử kháng thể gồm ba loại chính: các quyết định isotype, các quyết định allotype và các quyết định idiotype. Các quyết định này được định vị trên các vị trí đặc trưng của phân tử kháng thể.
- Kháng thể đa clon là hỗn hợp kháng thể được tạo ra bởi nhiều clon tế bào plasma đặc hiệu với nhiều quyết định kháng nguyên khác nhau. Kháng thể đơn clon được tạo ra từ chỉ một clon tế bào plasma đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên.