

# KẾT HỢP KHÁNG NGUYÊN-KHÁNG THỂ

# Chuẩn đầu ra

1. Nêu định nghĩa, các loại kháng nguyên (KN) và các yếu tố ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch của KN
2. Mô tả cấu trúc và chức năng của kháng thể (KT)
3. Mô tả đặc tính, lực liên kết trong phản ứng kết hợp KN-KT và khái niệm ái tính, hao tính của KT khi kết hợp với KN
4. Nêu nguyên lý và phân loại phản ứng tua, phản ứng ngưng kết và kỹ thuật đánh dấu

# NỘI DUNG

1. Kháng nguyên
2. Kháng thể
3. Kết hợp KN-KT
4. Các phản ứng kết hợp KN-KT

# KHÁNG NGUYÊN

- Định nghĩa
- Các loại kháng nguyên
- Các yếu tố ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch

# ĐỊNH NGHĨA KHÁNG NGUYÊN

Những **phân tử lạ hoặc vật lạ**, khi xâm nhập vào cơ thể vật chủ có khả năng **kích thích cơ thể vật chủ sinh ra các đáp ứng miễn dịch đặc hiệu** chống lại chúng

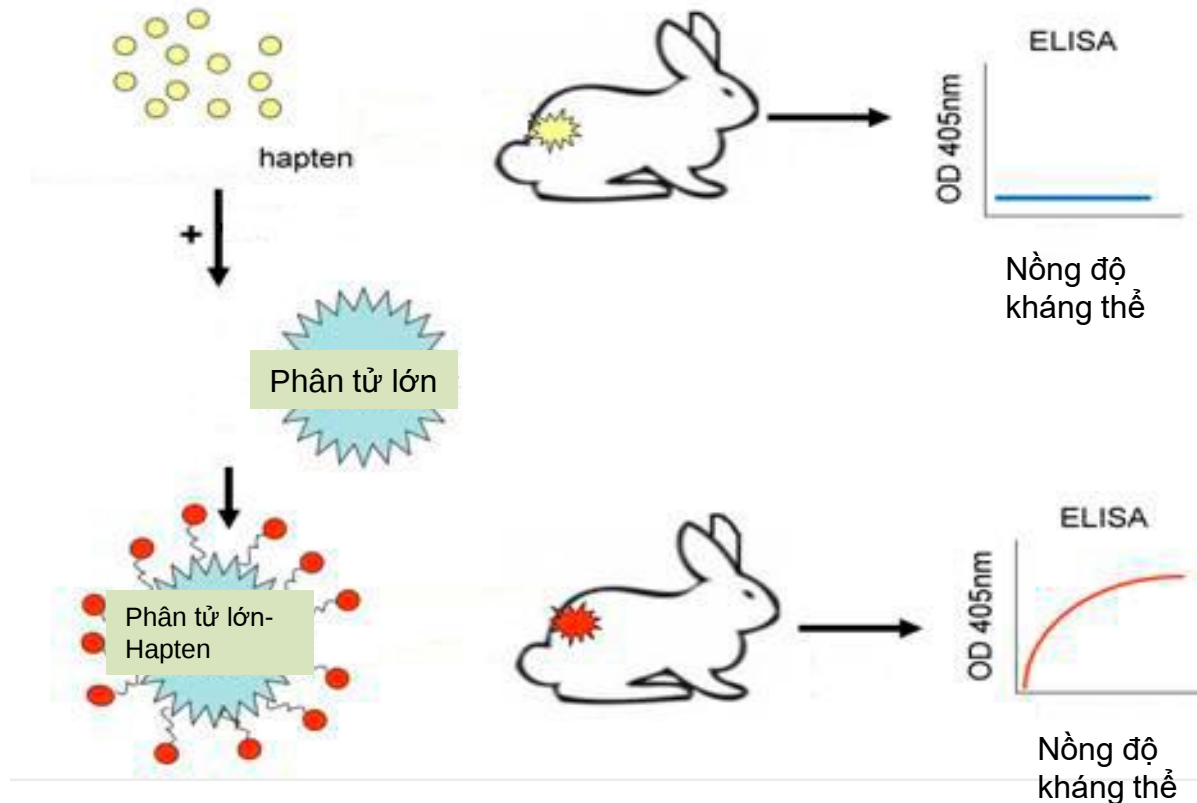
# CÁC LOẠI KHÁNG NGUYÊN

- Kháng nguyên hoàn toàn
- Kháng nguyên không hoàn toàn (Hapten)

# CÁC LOẠI KHÁNG NGUYÊN

- **Hapten:** kích thước nhỏ

Gắn vào phân tử lớn (protein hay đường): sinh kháng thể



# CÁC LOẠI KHÁNG NGUYÊN

## Hapten

Penicillin: Hapten

- Penicillin                                      nhóm “penicilloyl”

Phân hủy



- Gắn với protein albumin                                      phức hợp  
penicilloyl-protein                                      

=> đáp ứng miễn dịch

=> sản xuất IgE gắn với tế bào Mast và tế bào ái kiềm

=> dị ứng

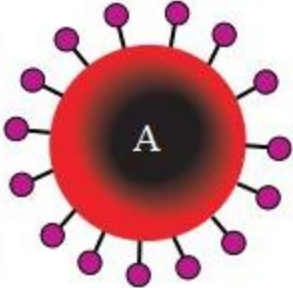
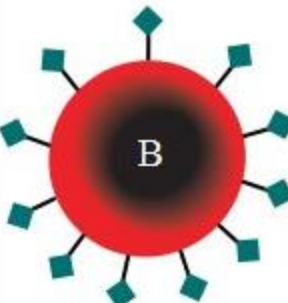
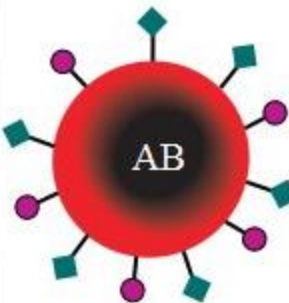
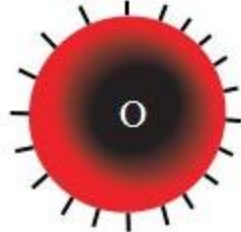
# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

- Tính “lạ”
- Kích thước, cấu trúc
- Liều kháng nguyên, số lần KN xâm nhập
- Đường vào của KN
- Cơ địa
- Tá dược

# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

**1. Tính lạ của KN:** Để kích thích cơ thể sinh ra ĐU'MD thì phân tử kích thích phải được nhận biết như là một phân tử không phải của chính bản thân cơ thể đó (tính lạ)

- Kháng nguyên khác loài
- Kháng nguyên đồng loài

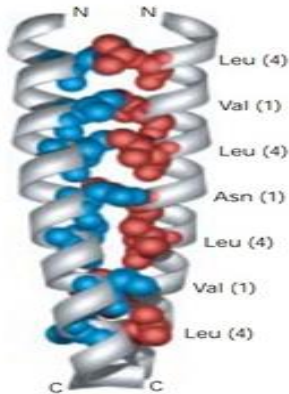
|          | A                                                                                  | B                                                                                  | AB                                                                                   | O                                                                                    |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Nhóm máu |  |  |  |  |

- Kháng nguyên tự thân: tự miễn

# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

## 2. Kích thước, cấu trúc KN: lớn > nhỏ Cấu trúc kháng nguyên

protein > acid nucleic



# **CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH**

## **3. Liệu kháng nguyên, số lần KN xâm nhập**

### **Liệu KN:**

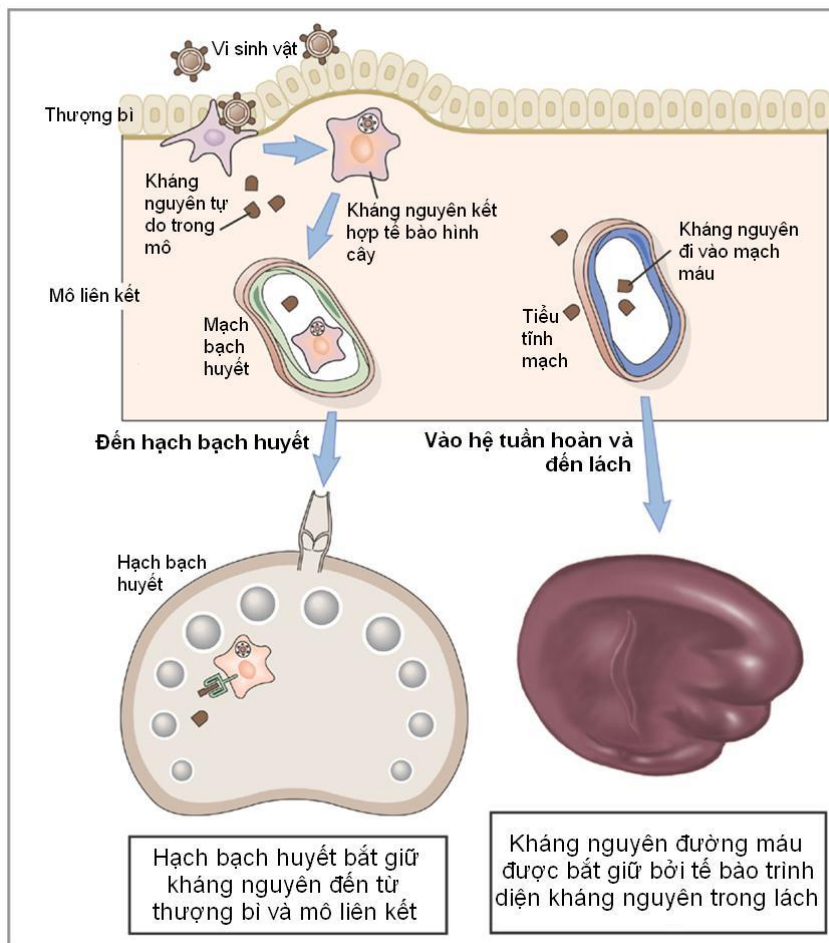
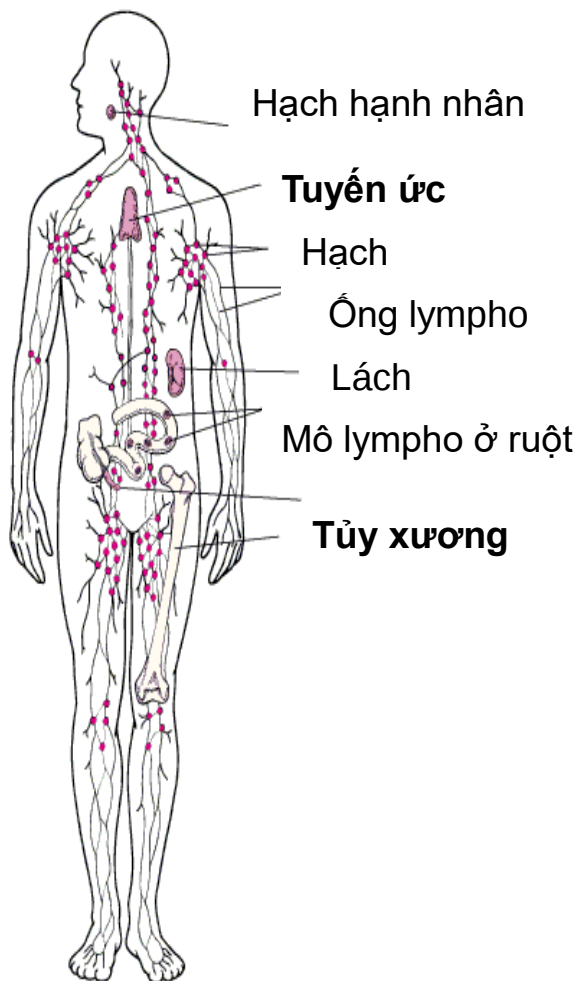
- Thích hợp

### **Số lần KN xâm nhập:**

- Một lần: sinh ra được đáp ứng MD với cường độ thấp
- Lặp lại nhiều lần: đáp ứng MD với cường độ cao

# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

## 4. Đường vào của KN:

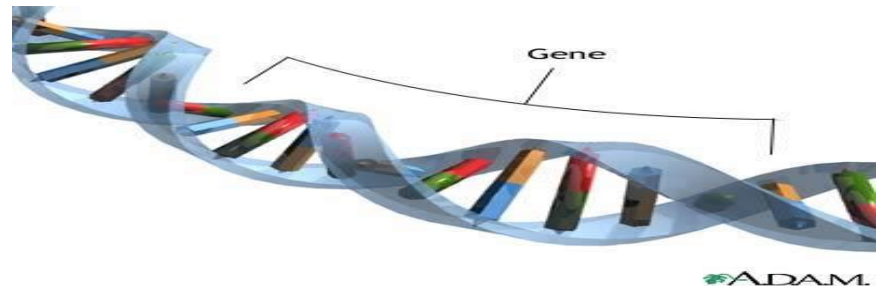


Copyright © 2004, 2001 Elsevier Inc. All rights reserved.

# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

## 5. Yếu tố cơ địa

- Cấu trúc di truyền của cơ thể vật chủ có ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh ĐƯMD và cường độ đáp ứng
- Đáp ứng của vật chủ với một KN còn phụ thuộc vào các gene mã hoá các thụ thể của tế bào B và tế bào T và vào các gene mã hoá các protein khác nhau tham gia vào các cơ chế ĐƯMD



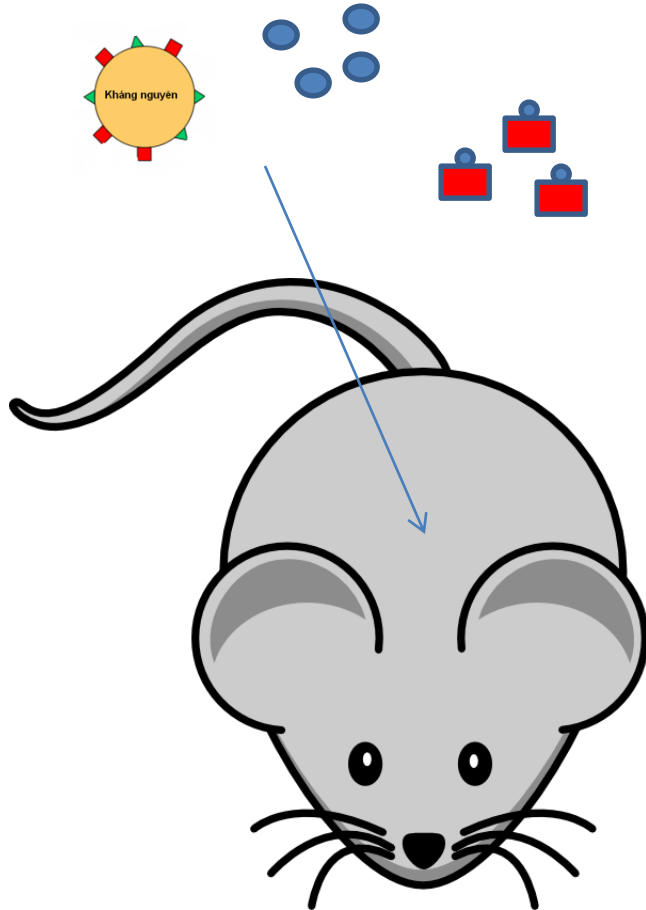
# CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN TÍNH SINH MIỄN DỊCH

## 6. Tá chất

- Những chất khi được trộn với KN và tiêm cùng với KN sẽ làm tăng tính sinh MD
  - Kéo dài sự tồn tại của KN trong cơ thể
- Ví dụ khi trộn KN với kali nhôm sulphat, muối này sẽ gây tủa protein KN
- Một số tá chất kích thích phản ứng viêm tại chỗ  
=> thu hút các tế bào thực bào đến nơi có KN



# TÓM TẮT

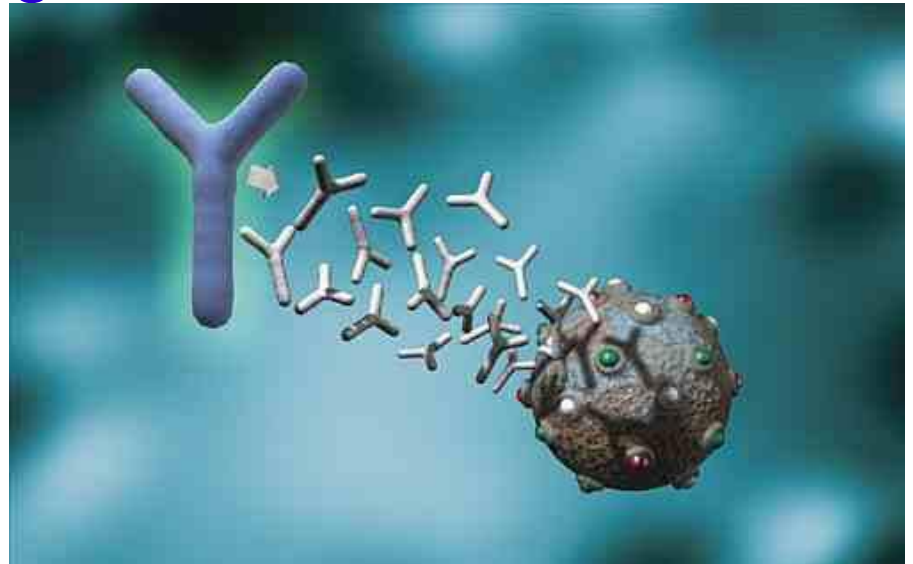


Các yếu tố ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch:

1. Tính lạ
2. Kích thước, cấu trúc
3. Liều KN và số lần KN xâm nhập
4. Đường vào của KN
5. Cơ địa
6. Tá dược

# KHÁNG THỂ

- Định nghĩa
- Cấu trúc
- Sự hình thành kháng thể
- Phân loại và chức năng

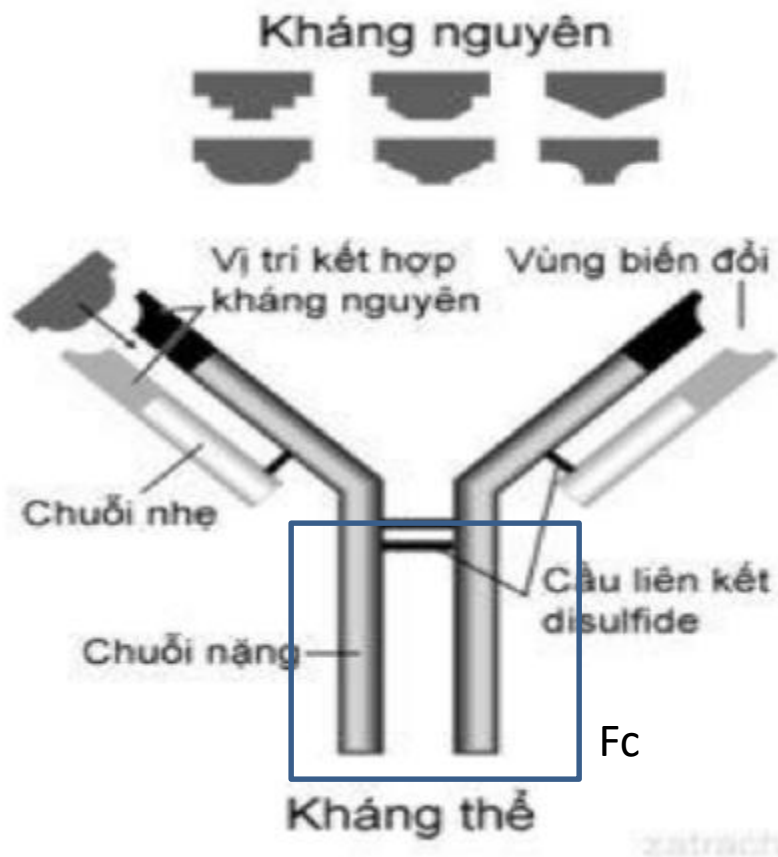


# KHÁNG THỂ

- Định nghĩa

KT là một loại glycoprotein do KN kích thích tạo ra và có thể kết hợp đặc hiệu với KN ấy

# CẤU TRÚC KHÁNG THỂ



- 4 chuỗi polypeptide, gồm hai chuỗi nặng và hai chuỗi nhẹ giống hệt nhau

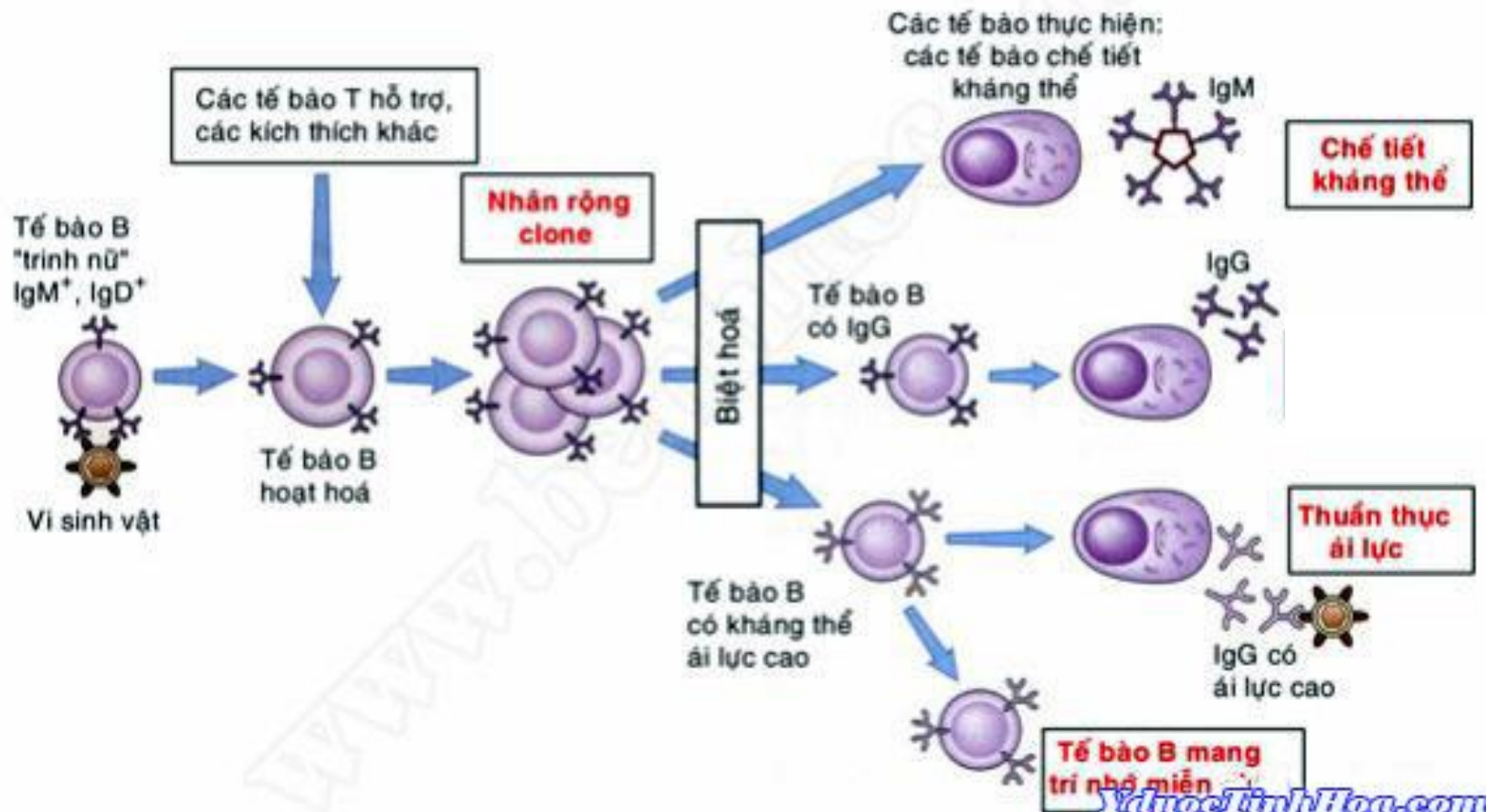
- Mỗi kháng thể chỉ có thể nhận diện một epitop kháng nguyên duy nhất

- KT được chia thành 5 lớp: IgM, IgD, IgA, IgE và IgG

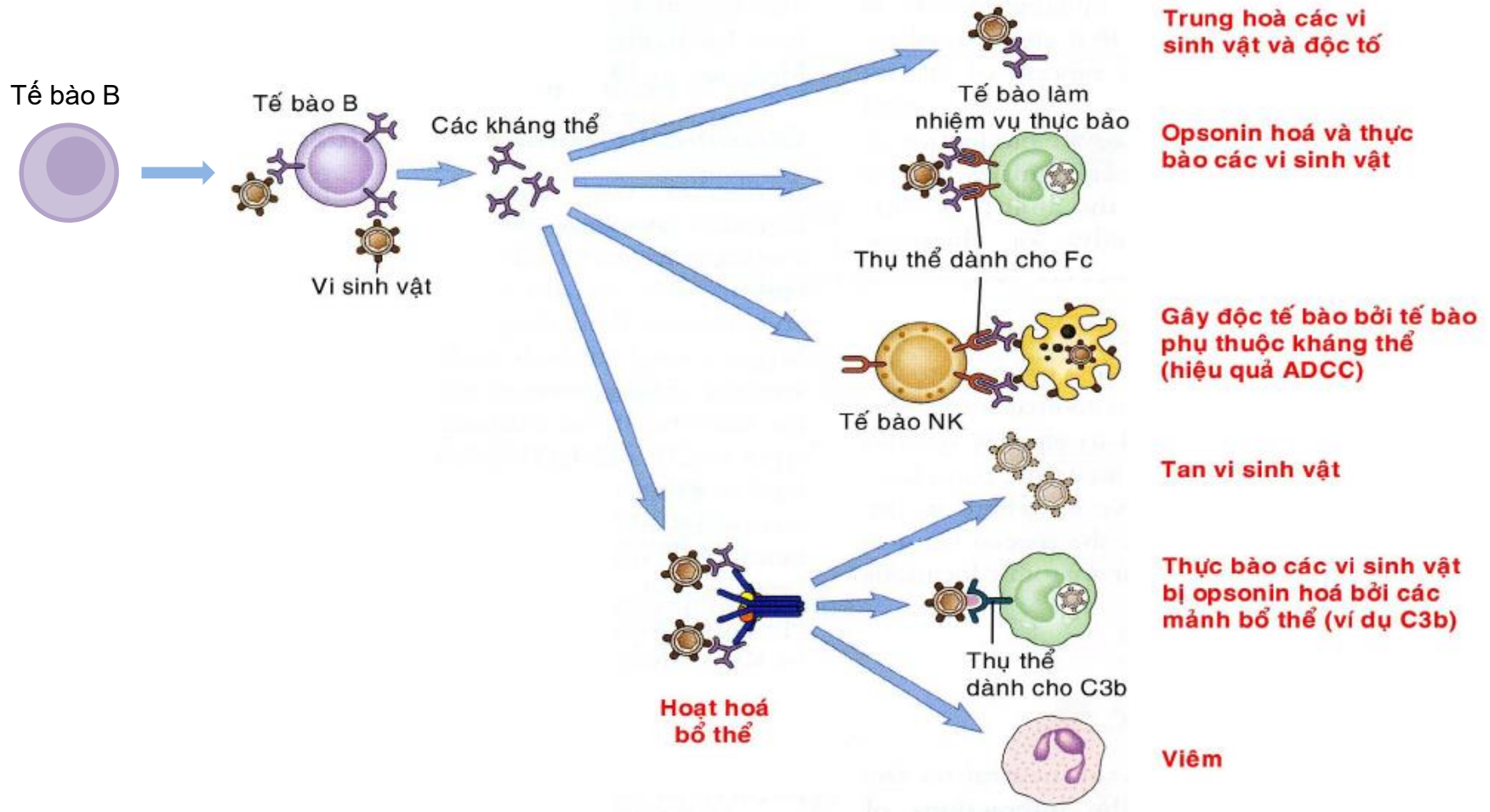
# SỰ HÌNH THÀNH KHÁNG THỂ

Nhận diện  
kháng nguyên

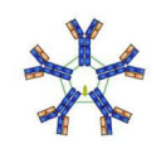
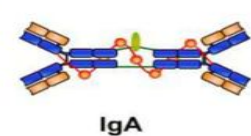
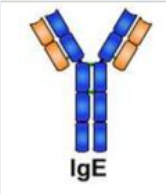
Hoạt hoá các  
tế bào lympho B



# CHỨC NĂNG KHÁNG THỂ



# PHÂN LOẠI VÀ CHỨC NĂNG CÁC LOẠI KHÁNG THỂ

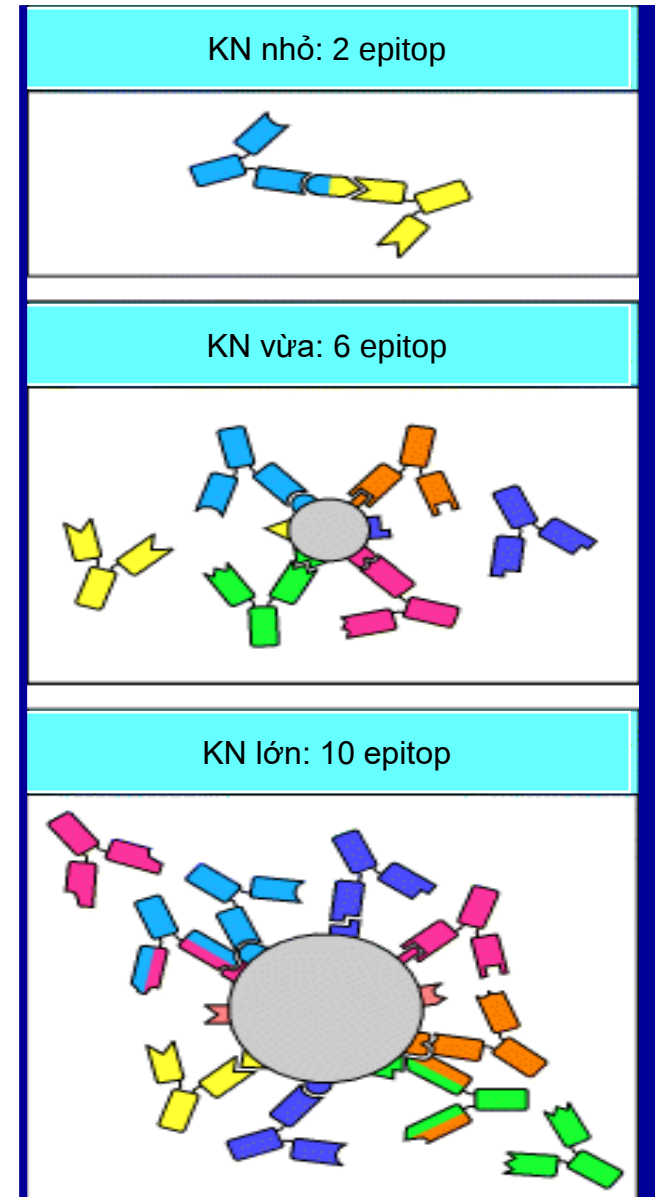
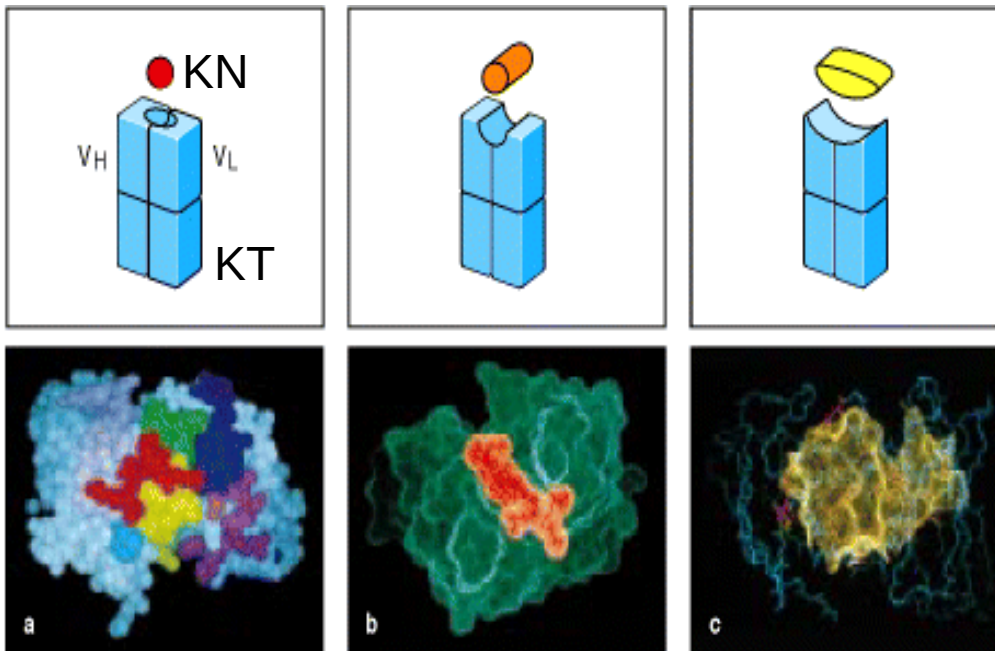
| Lớp Immuno globulin | Vị trí chủ yếu                | Tỷ lệ       | Vai trò                                                           | Hình dạng                                                                             |
|---------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| IgM                 | Máu                           | 10%         | Ngưng tụ, hoạt hóa bổ thể                                         |    |
| IgD                 | Lympho B                      | <1%         | Hoạt hóa tế bào lympho B                                          |    |
| IgA                 | Các dịch tiết                 | 15% đến 20% | Ngưng tụ, trung hòa vi khuẩn, virus                               |    |
| IgE                 | Bạch cầu ái kiềm, tế bào Mast | <1%         | Trung hòa ký sinh trùng, tham gia vào quá trình dị ứng và quá mẫn |   |
| IgG                 | Máu                           | 70% đến 75% | Trung hòa độc tố vi khuẩn, virus, hoạt hóa bổ thể                 |  |

# KẾT HỢP KHÁNG NGUYÊN-KHÁNG THỂ

- Khái niệm epitop và paratop
- Đặc tính của phản ứng kết hợp KN-KT
- Các lực liên kết KN-KT
- Ái tính và hao tính
- Ứng dụng

# KHÁI NIỆM EPITOP VÀ PARATOP

- Epitop là vị trí KN kết hợp trực tiếp với KT. Có nhiều loại epitop khác nhau (xem hình)
- Paratop là vị trí của KT kết hợp với KN



# ĐẶC TÍNH CỦA PHẢN ỨNG KẾT HỢP KN-KT

- **Thuận nghịch:**

- Kết hợp và phân ly, cấu trúc KN và KT không thay đổi

- Phân ly phụ thuộc vào một số yếu tố như pH, nồng độ muối, nhiệt độ

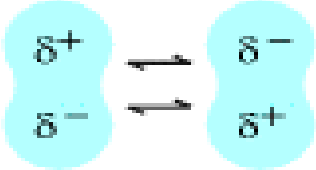
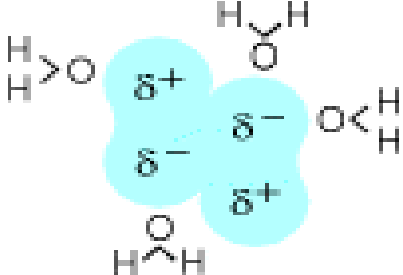
- **Đặc hiệu:** KT chỉ kết hợp đặc hiệu với KN

- ***Phản ứng chéo:*** ***KT*** của KN A lại tác dụng với KN B. Nguyên nhân: hai KN này có hai epitop giống nhau hoặc ít nhất là cũng tương tự nhau.

- **Tạo nhiệt:** 2-4Kcal/mol

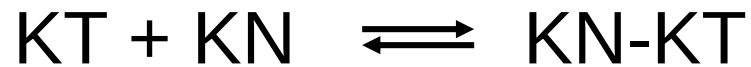
# CÁC LỰC LIÊN KẾT GIỮA KN-KT

Là những lực hóa lý thông thường, gặp trong các liên kết enzyme-cơ chất, hormone với tế bào đích...

| Các lực           | Nguồn gốc                                                                         |                                                                                                                                      |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lực hút tĩnh điện | Tương tác giữa các nhóm mang điện trái dấu                                        | $\text{—NH}_3^+ \quad \text{OOC}^-$                                                                                                  |
| Cầu nối hydro     | Hydro liên kết với các nguyên tử mang điện âm (N,O)                               | $\begin{array}{c} > \text{N} \text{—} \text{H} \text{—} \text{O} = \text{C} < \\ \delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^- \end{array}$ |
| Lực Van der Waal  | Chuyển động của các đám mây điện tử xung quanh các phân tử làm cho phân tử có cực |                                                   |
| Lực hút kỵ nước   | Các nhóm kỵ nước gần nhau tương tác và giải phóng các phân tử H2O                 |                                                 |

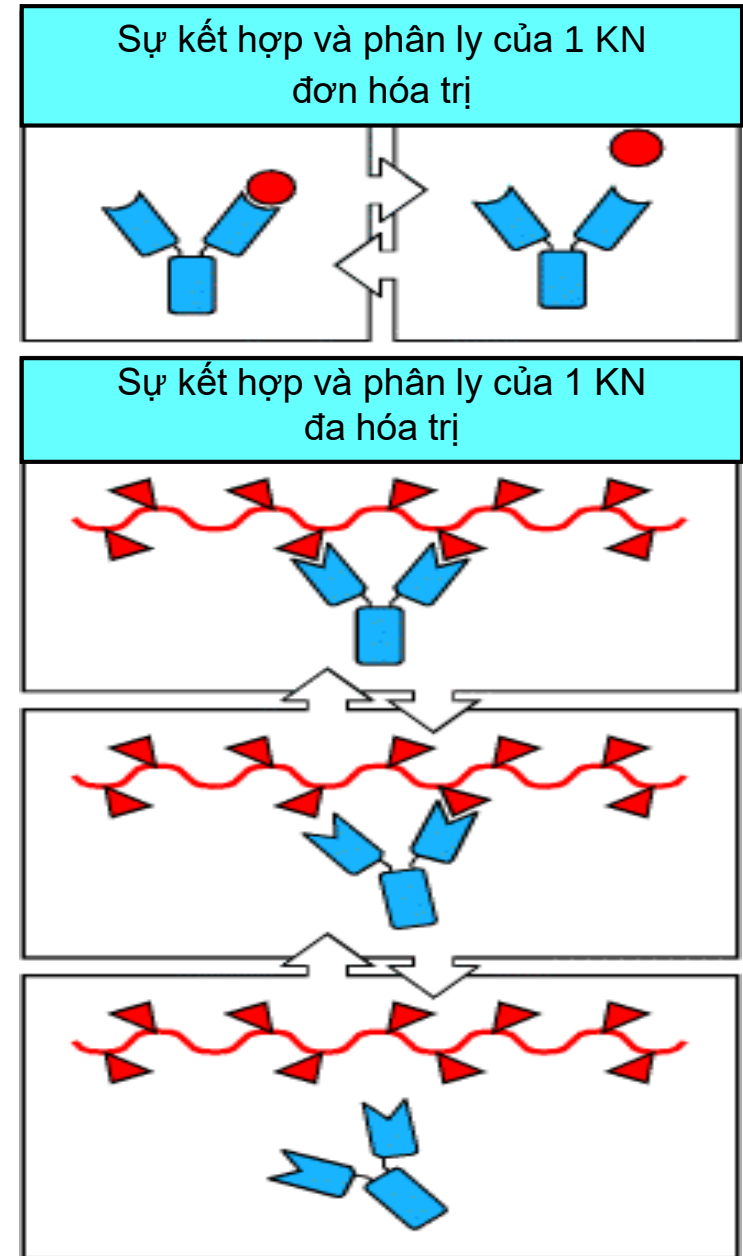
# ÁI TÍNH VÀ HẢO TÍNH

Ái tính (affinity) của KT với KN được biểu thị bằng tổng hợp tất cả các lực liên kết giữa 1 paratop với 1 epitop.



$$\frac{[KN.KT]}{[KN] \times [KT]} = K$$

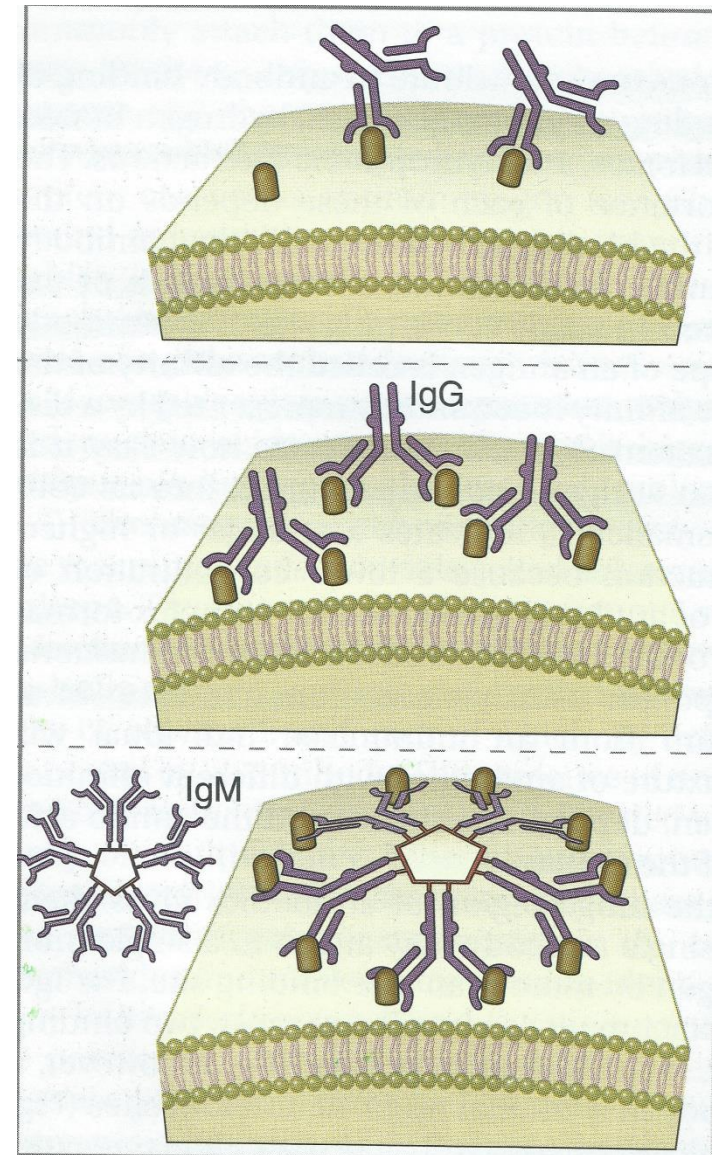
K: là hằng số kết hợp, ái tính của KT đối với một epitop nhất định



# HÁO TÍNH

“Háo tính”(avidity) của KT là biểu thị tất cả các lực liên kết giữa các KT và KN đa hóa trị

- Háo tính phụ thuộc vào số epitop của KN và số hóa trị của KT (IgG, IgM..), pH, các lực, nhiệt độ và hằng số kết hợp  
 $K_1 \times K_2 \times K_3 \dots$
- Ái tính có ý nghĩa lý thuyết, còn háo tính có ý nghĩa thực tế.



# TÓM TẮT

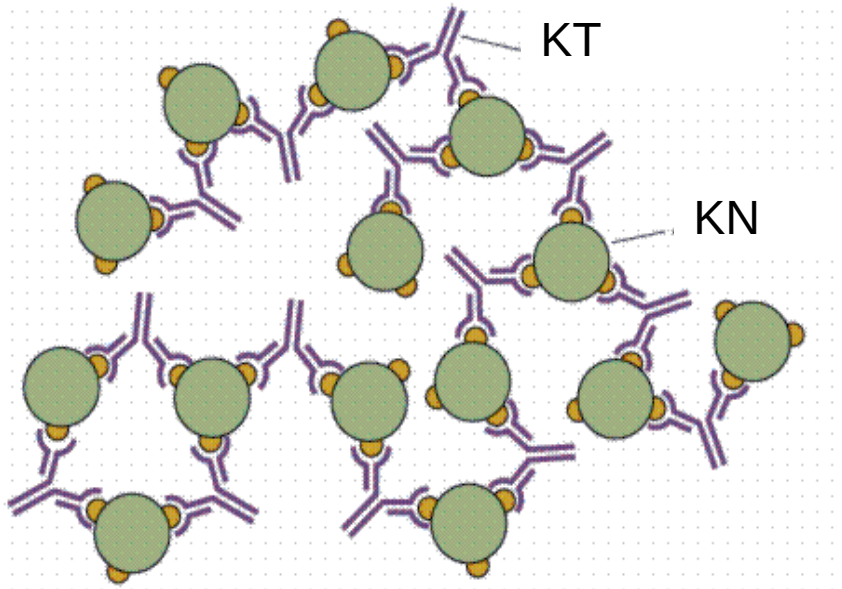
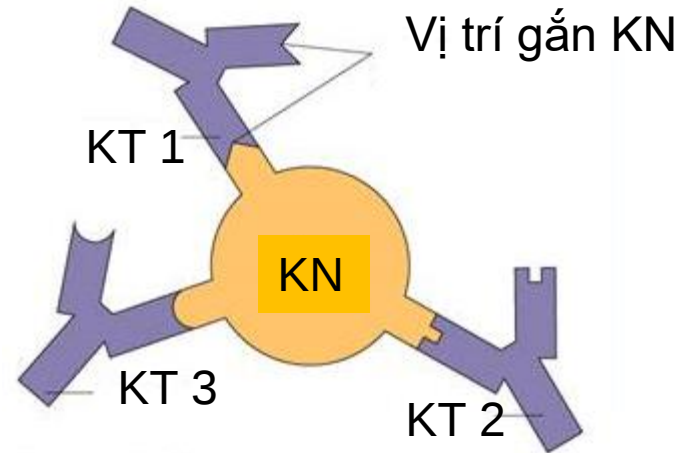
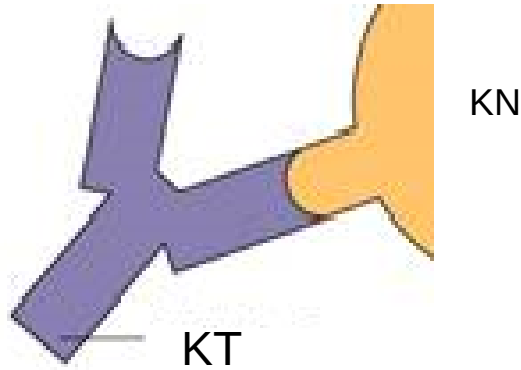
- Kháng nguyên: định nghĩa, bản chất, phân loại, các yếu tố ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch
- Kháng thể: cấu trúc, phân loại, vai trò
- Kết hợp KN-KT và một số ứng dụng trong thực tế

Tác động sinh học của phản ứng KN-KT?

# CÁC LOẠI PHẢN ỨNG KẾT HỢP KN-KT

1. Phản ứng tỏa
2. Phản ứng ngưng kết
3. Phản ứng miễn dịch đánh dấu

# PHẢN ỨNG TỬA



## Nguyên lý chung.

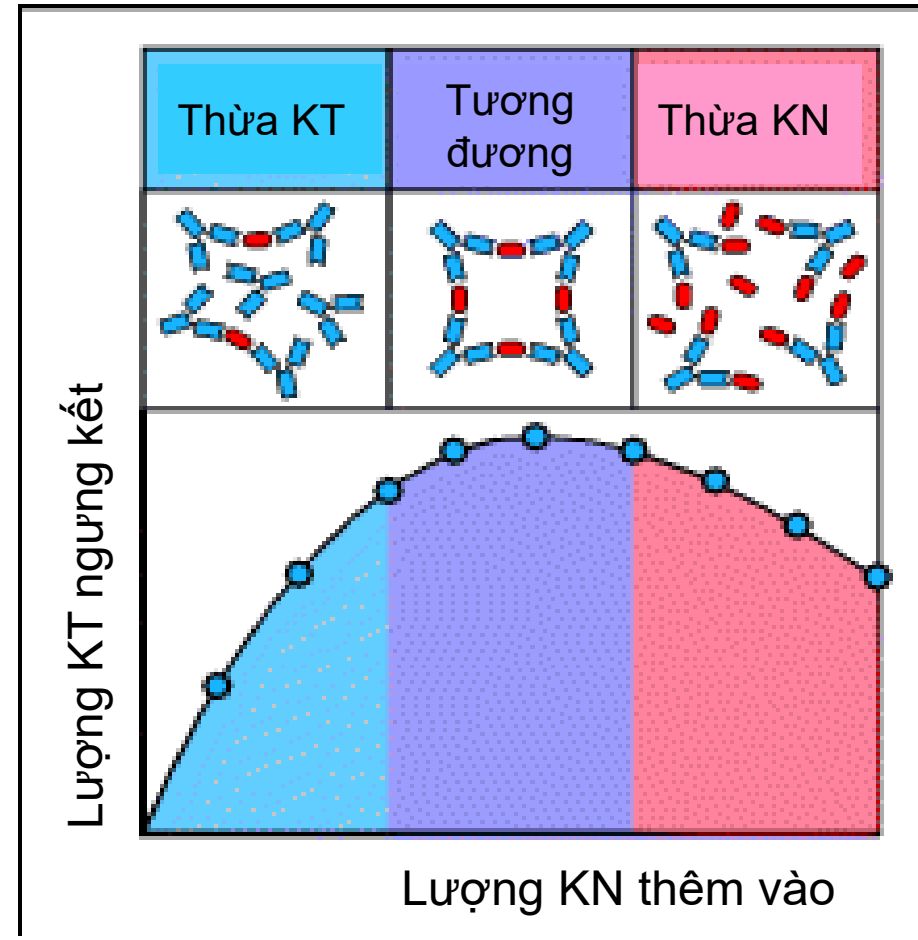
Các KN hoặc KT ở dạng hòa tan kết hợp với KT hoặc KN đặc hiệu tương ứng tạo thành các phức hợp miễn dịch (tủa) có thể nhìn thấy được.

# PHẢN ỨNG TỬA

KN và KT phải trộn với nhau theo một tỷ lệ thích hợp thì tửa mới được tạo ra

Các loại phản ứng tửa:

- Môi trường lỏng
- Môi trường gel



# PHẢN ỨNG TỬA TRONG MÔI TRƯỜNG LỎNG

- Phản ứng tửa hình đĩa (vòng): định tính
- Phương pháp Heidelberger-Kendall

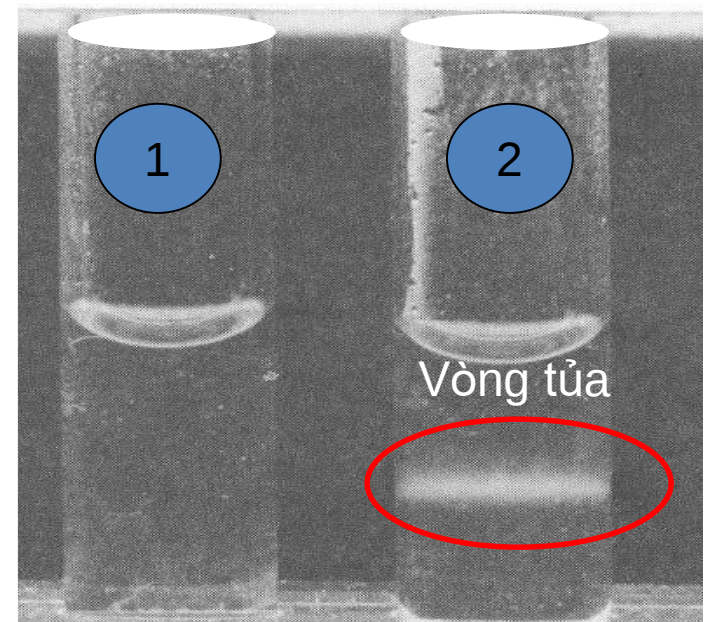
# PHẢN ỨNG TỬA

- Phát hiện KN, KT
- Độ nhạy của phản ứng này rất cao:protein ở độ pha loãng 1/100.000
- Phản ứng nhạy phát hiện các thành phần khác nhau (độ tinh khiết) của KN-KT
- Qui luật cơ bản của phản ứng khuếch tán kết tửa
  - Một KN chỉ tạo được một vùng kết tửa
  - Khi dung dịch có nhiều loại KN (hoặc KT) thì chất này không ảnh hưởng đến chất kia

# PHẢN ỨNG TỬA TRONG MÔI TRƯỜNG LỎNG: PHÁT HIỆN KN/KT

Phản ứng tửa hình đĩa (vòng): Định tính

- Cho dung dịch KN vào mỗi ống nghiệm
- Nhỏ từ từ KT theo vách ống nghiệm lên lớp KN (không trộn lẫn với KN)
- Vòng tửa xuất hiện giữa 2 lớp KN và KT (ống 2)

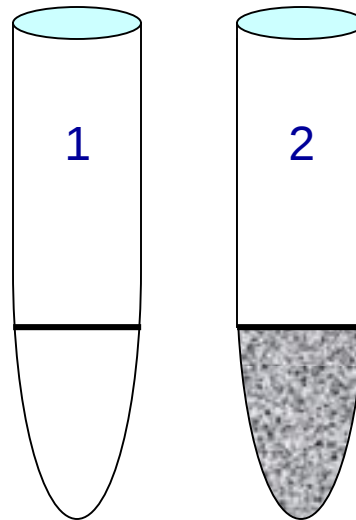


# TỦA ĐỀU TRONG MÔI TRƯỜNG LỎNG

- Cho KT vào một ống nghiệm
- Thêm một lượng KN tương ứng
- Lắc đều và quan sát tủa hình thành

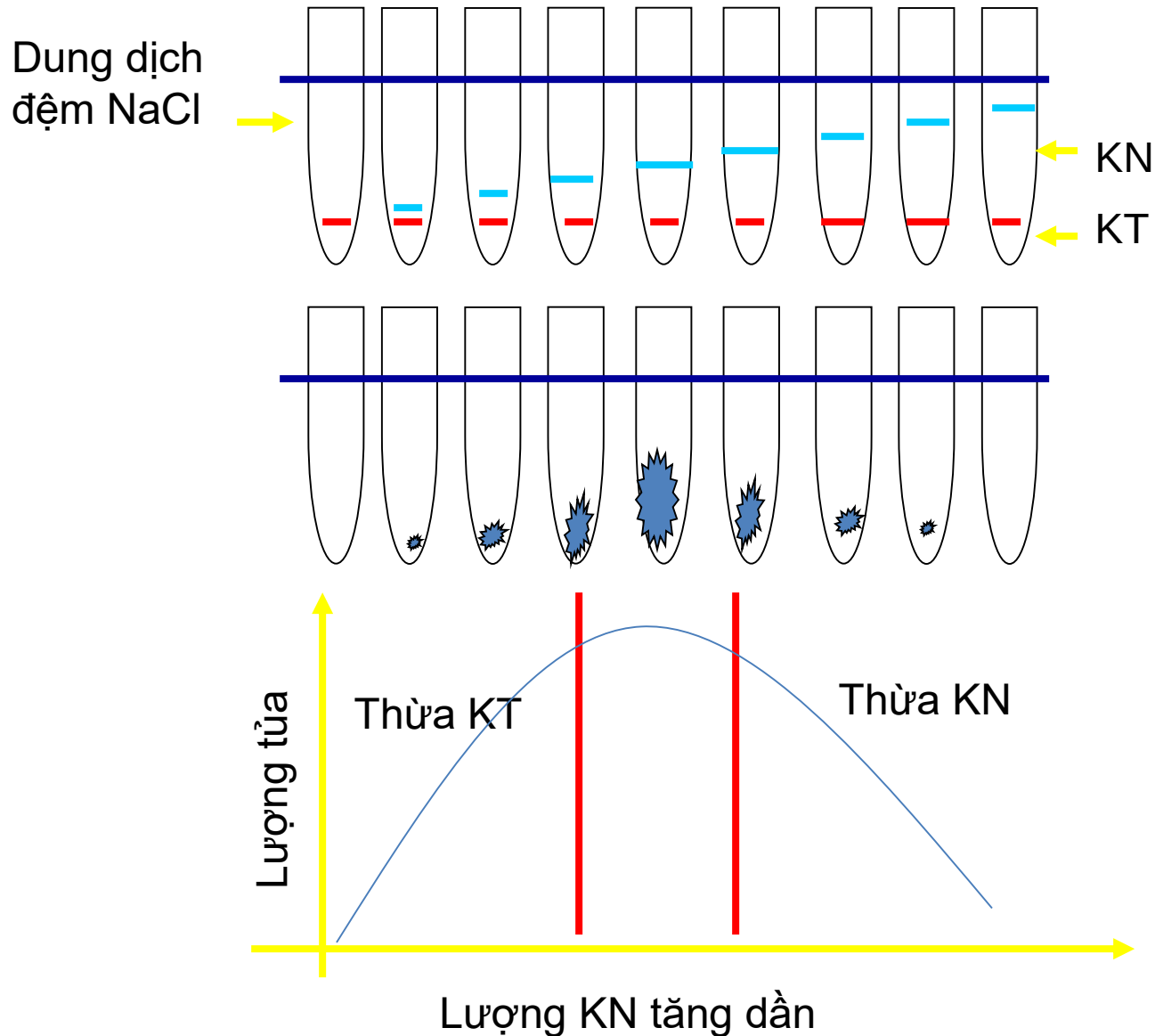
KT 100 $\mu$ l

KN 100 $\mu$ l



←Tủa: mờ, đục

# PHƯƠNG PHÁP HEIDELBERGER VÀ KENDALL



# PHẢN ỨNG TỬA TRONG MÔI TRƯỜNG GEL

## Định tính

- Khuếch tán một chiều trong gel
- Khuếch tán Ouchterlony
- Điện di đối lưu, kỹ thuật Kohn
- Điện di miễn dịch

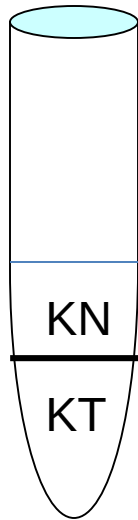
## Định lượng

- Khuếch tán vòng Mancini
- Điện di tên lửa-Laurell
- Điện di miễn dịch hai chiều

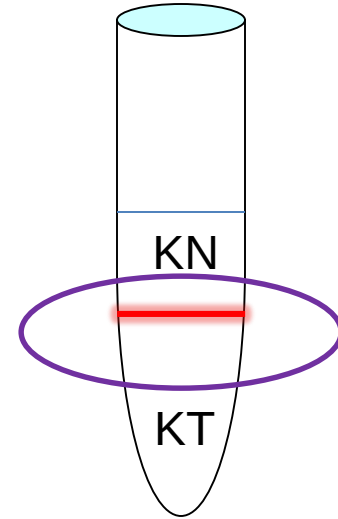
# KHUẾCH TÁN MỘT CHIỀU TRONG GEL



KT hòa đều trong gel

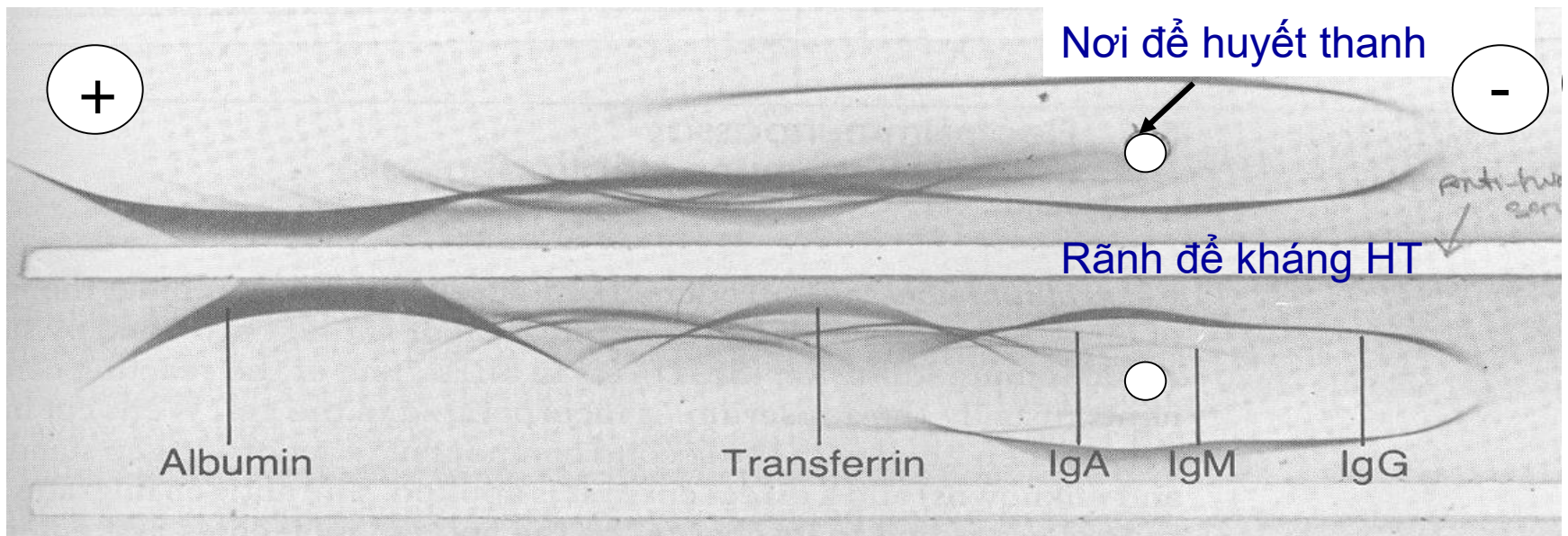


Trên mặt gel, thêm  
dung dịch KN



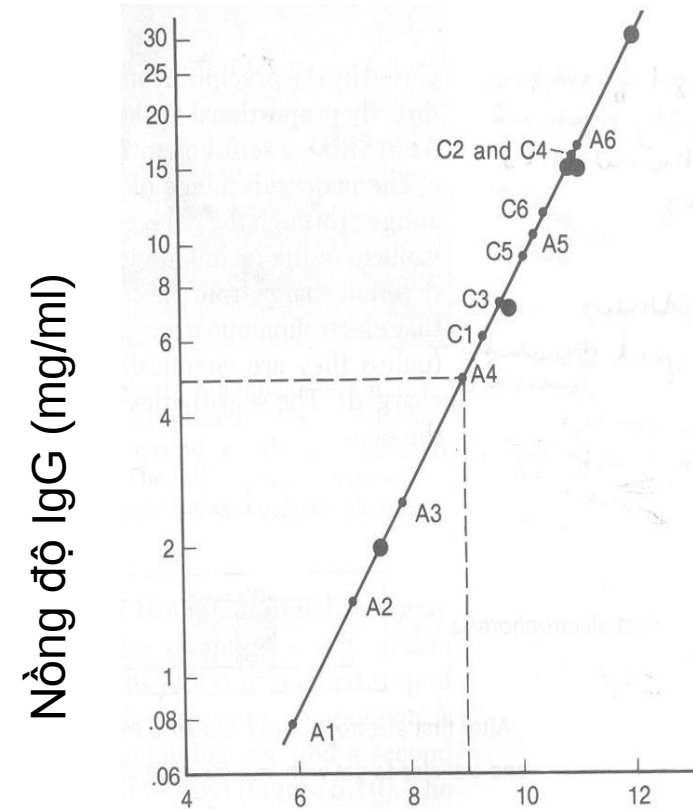
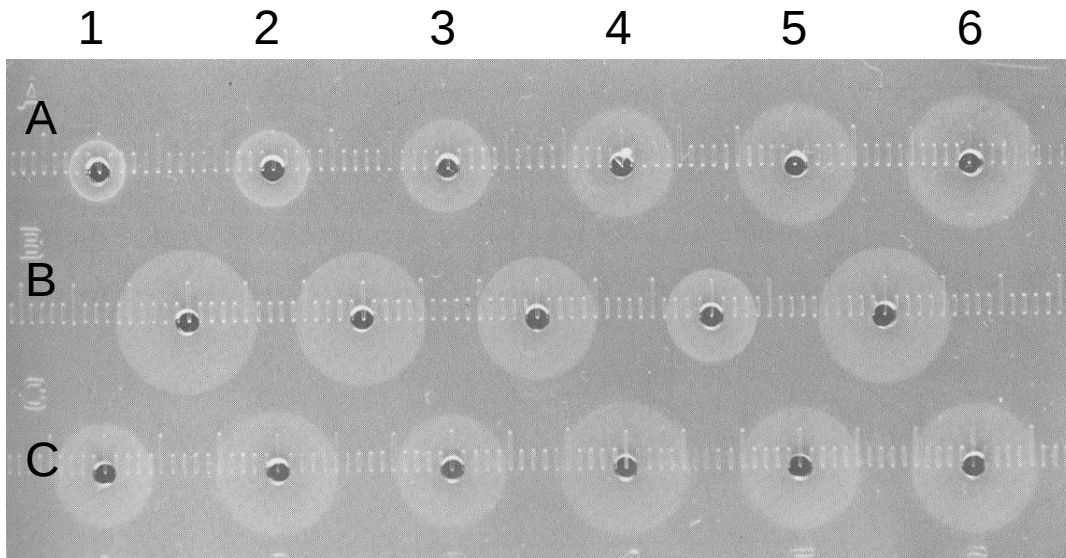
Tủa

# ĐIỆN DI MIỄN DỊCH



# KHUẾCH TÁN VÒNG MANCINI

- KN được trộn đều trong gel
- A: KT đã biết nồng độ
- B và C: KT cần định lượng



Đường kính vòng tủa (mm)

# PHẢN ỨNG NGƯNG KẾT

Nguyên lý chung:

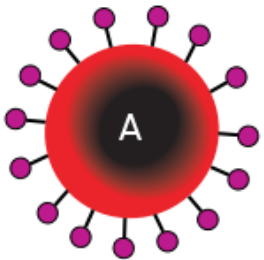
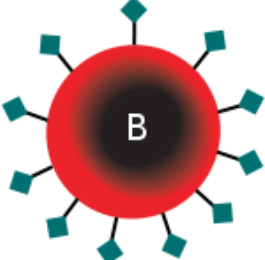
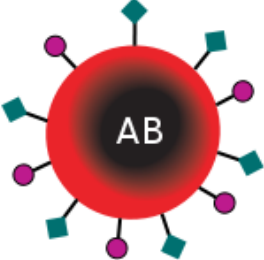
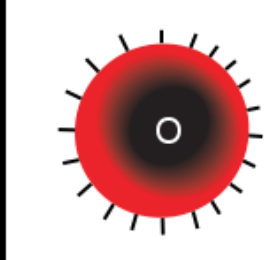
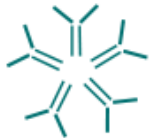
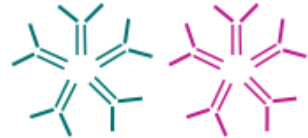
KN nằm trên bề mặt tế bào (hồng cầu, bạch cầu...) hoặc các hạt nhân tạo mang kháng nguyên kết hợp với KT đặc hiệu tạo thành các mạng lưới KN-KT (ngưng kết) và có thể quan sát được.

# Các loại ngưng kết:

- Chủ động (KN là các tế bào hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, tinh trùng...)
- Thụ động (KN hoặc KT gắn nhân tạo lên các hạt ... Khi KN gắn lên hạt nhân tạo như HC nhóm O, HC cừu hoặc hạt latex thì phản ứng gọi là ngưng kết thụ động thuận, còn khi KT gắn lên các hạt trên thì gọi là thụ động ngược)
- Phản ứng Coombs: KT không gây được ngưng kết vì 2 epitop trên cùng một tiểu thể

# NGŨNG KẾT CHỦ ĐỘNG

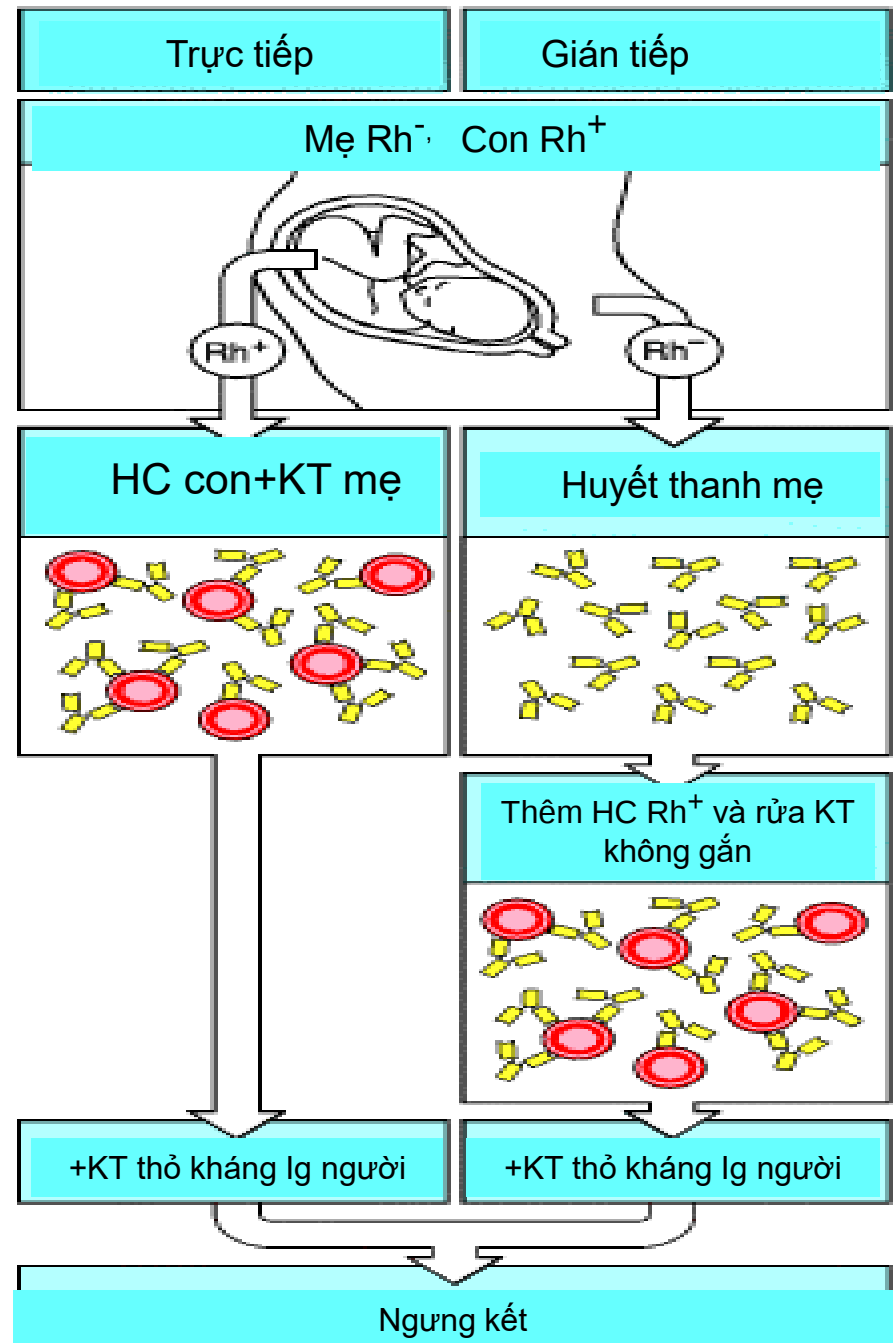
## XÁC ĐỊNH NHÓM HỒNG CẦU ABO

|                      | Nhóm A                                                                                                | Nhóm B                                                                                                | Nhóm AB                                                                                                      | Nhóm O                                                                                                  |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Loại tế bào hồng cầu |                      |                      |                            |                      |
| Kháng thể            | <br>Kháng thể B      | <br>Kháng thể A      | Không có                                                                                                     | <br>Kháng thể A và B |
| Kháng nguyên         | <br>Kháng nguyên A | <br>Kháng nguyên B | <br>Kháng nguyên A và B | Không có                                                                                                |

# NGƯNG KẾT CHỦ ĐỘNG XÁC ĐỊNH NHÓM HỒNG CẦU ABO

| KT $\alpha$ -A                                                                       | KT $\alpha$ -B                                                                        | Chứng                                                                                 | Nhóm máu |
|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------|
|    |    |    | O        |
|    |    |    | A        |
|    |    |    | B        |
|    |    |    | AB       |
|  |  |  |          |

# Nghiệm pháp Coombs trực tiếp và gián tiếp



# PHẢN ỨNG MIỄN DỊCH ĐÁNH DẤU

Nguyên lý chung:

KN hoặc KT được gắn với enzyme hoặc một trong số các chất hóa học khác (phóng xạ, huỳnh quang...) để làm tăng khả năng nhận biết phức hợp KN-KT lên rất nhiều lần.

- Miễn dịch huỳnh quang
- Miễn dịch gắn enzyme (ELISA)
- Miễn dịch phóng xạ
- Dấu ấn miễn dịch Western blot

# ĐẶC ĐIỂM:

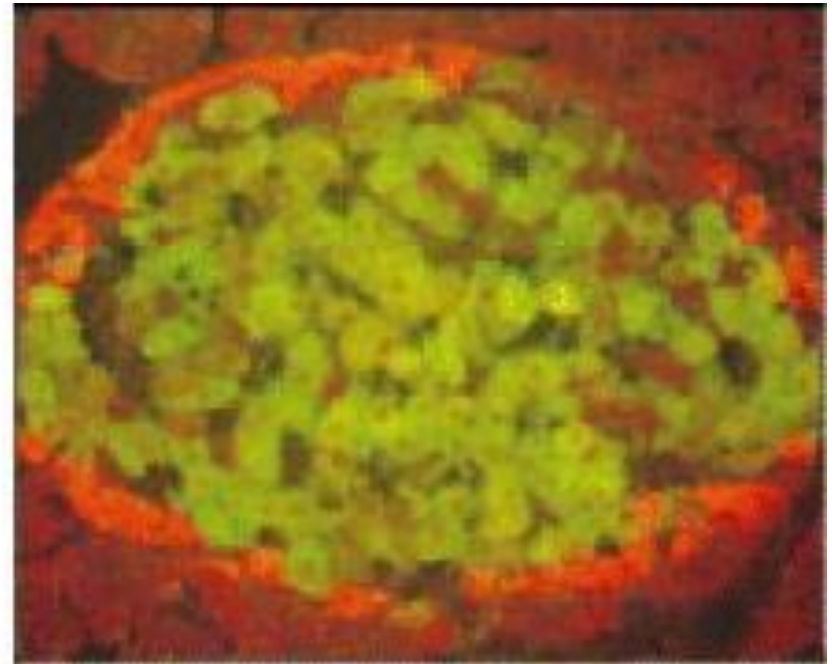
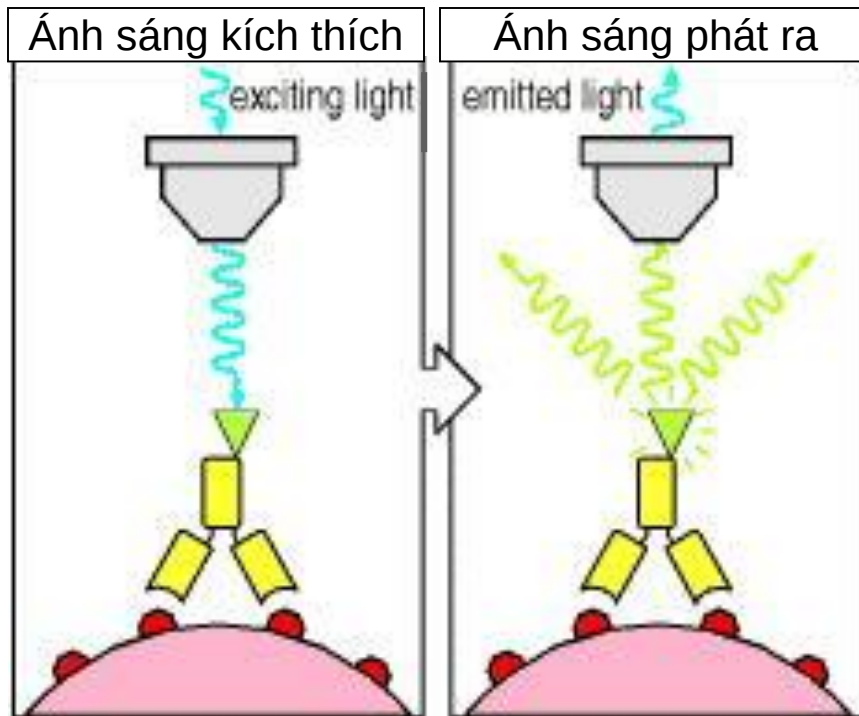
- Độ nhạy rất cao: có thể phát hiện được các phân tử KN hoặc KT ở nồng độ hoặc mật độ thấp
- Các chất đánh dấu không làm biến tính KN hoặc KT
- Thường phải đọc kết quả ở các thiết bị chuyên dụng.

# CÁC LOẠI MIỀN DỊCH HUỖNH QUANG

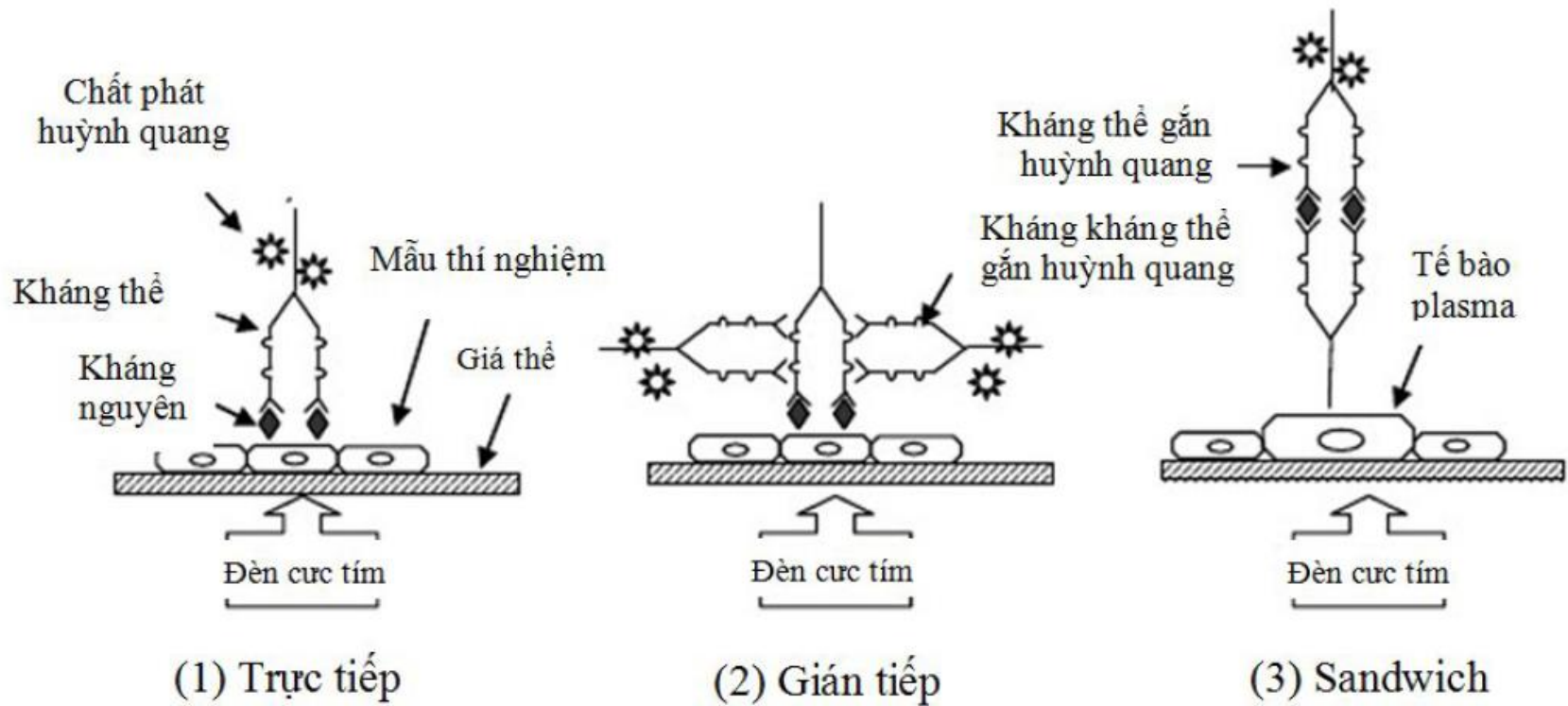
- MDHQ trực tiếp: Xác định các KN ở các vị trí khác nhau của tế bào và lát cắt tổ chức: Insulin ở mô tụy...
- MDHQ gián tiếp: Phát hiện KT kháng nhân...
- Kỹ thuật bánh kẹp Sandwich

# MIỀ~N DỊCH HUỖNH QUANG (MDHQ)

## Nguyên lý



# MIỀN DỊCH HUỖNH QUANG (MDHQ)

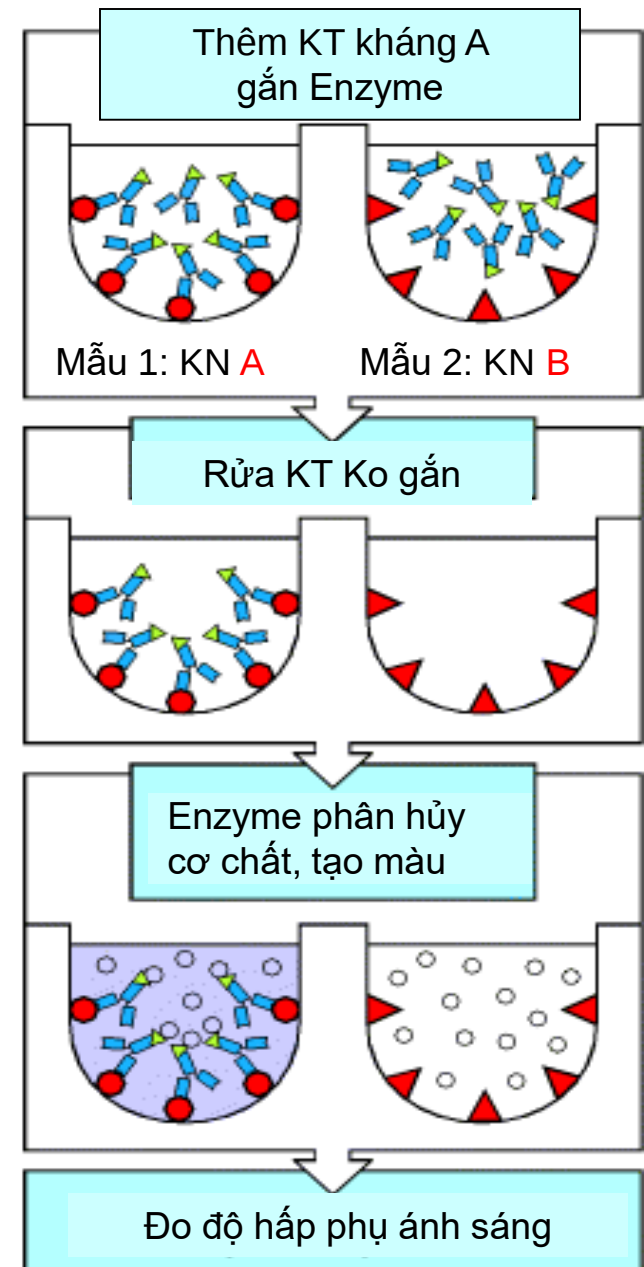


Hình 11.6 Các phản ứng miễn dịch huỳnh quang (Nguyễn Bá Hiên, 2009)

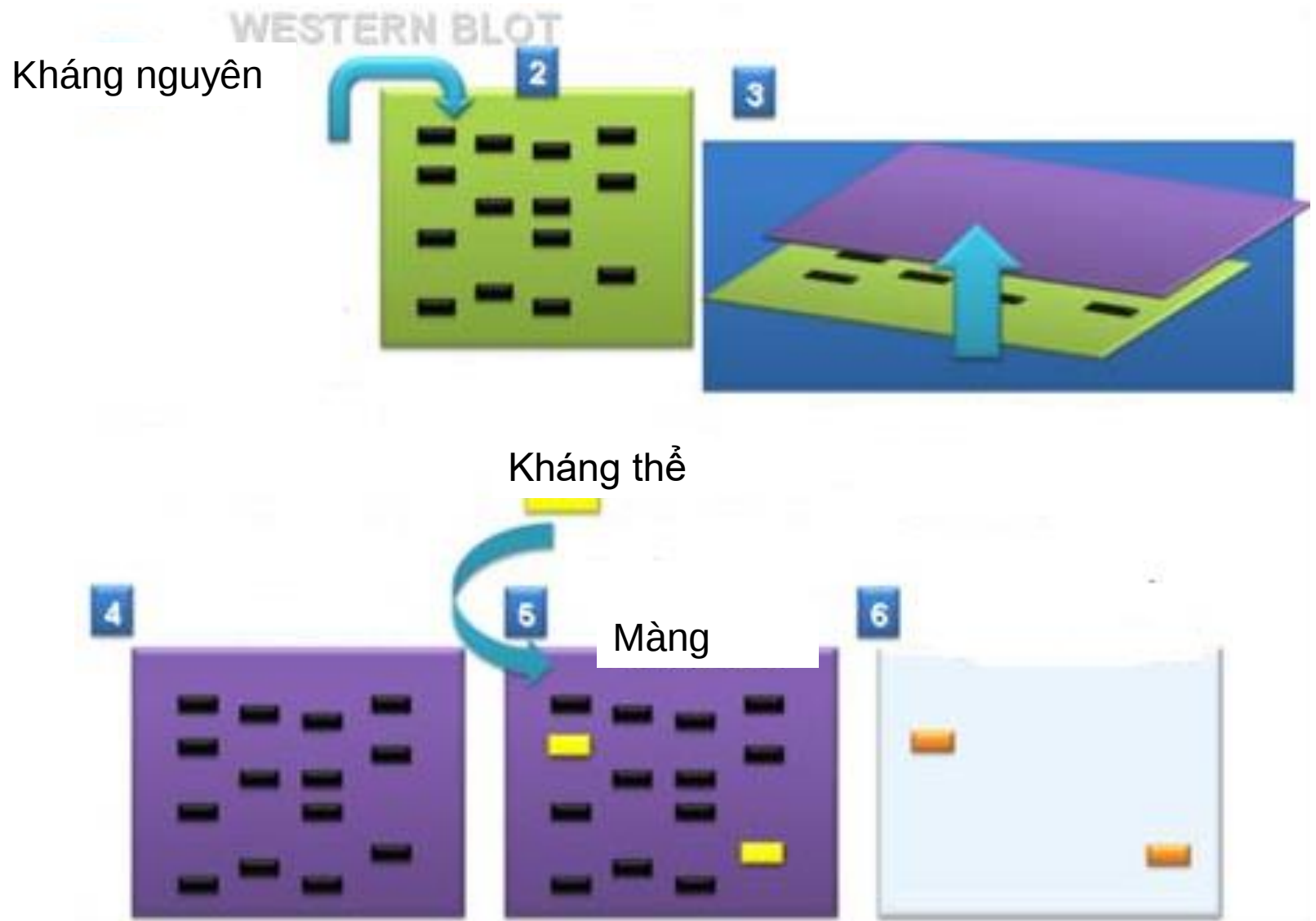
# MIỄN DỊCH GẮN ENZYME (ELISA) VÀ MIỄN DỊCH PHÓNG XẠ (RIA)

Enzyme: Peroxidase...

Đồng vị phóng xạ: H3, Cacbon 14...



# DẤU ẤN MIỀN DỊCH WESTERN BLOT



# NGUYÊN LÝ TRONG TIÊM VACXIN

- Bảo vệ cơ thể chống lại các bệnh (v.d. bệnh truyền nhiễm)
- Kiểm tra nồng độ kháng thể đặc hiệu
- Thường đặc hiệu cho một loại KN nhất định
- Vaccin giảm động lực: sinh vật sống nhưng không gây bệnh
- Vaccin bất hoạt: Sản phẩm chết của vi sinh vật có tính sinh miễn dịch
- Vaccin tái tổ hợp, vaccin tinh chế, vaccin gen học, vaccin sống được biến đổi ...
- Vaccine càng giống với vi sinh vật gây bệnh  
=> hiệu quả bảo vệ cao

# TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Giáo trình sinh lý bệnh miễn dịch cho đối tượng Cử nhân Y tế Công Cộng, ĐH Y tế Công Cộng Hà Nội
- Giáo trình sinh lý bệnh và miễn dịch, ĐH Y Hà Nội
- Cellular and Molecular Immunology, Abbas.A, 2007

CÂU HỎI?

CẢM ƠN SỰ THAM GIA CỦA CÁC EM!