

Antigènes/allergènes

Spécificité et réactions croisées : un paradoxe ?

B. DAVID

RÉSUMÉ

La spécificité d'une réaction immunitaire est l'élément capital de la définition d'un complexe antigène-anticorps. Cependant, la spécificité absolue d'un anticorps vis-à-vis de l'antigène homologue et de la famille d'antigènes apparentés est actuellement remise en question du fait de l'existence de réactions croisées entre des anticorps monoclonaux et des antigènes non apparentés. La notion de spécificité et la réactivité croisée est concevable si on fait intervenir à la fois la simple analogie de structure de deux antigènes différents, la configuration spatiale, entre les atomes de l'antigène et les résidus hypervariables de l'immunoglobuline (anticorps) et enfin la somme des forces d'interactions qui permet la reconnaissance plus ou moins forte d'un antigène donné (affinité).

MOTS-CLÉS : Allergènes – Allergies croisées.

SUMMARY

Antigens/allergens. Specificity and cross-reactions: a paradox? – The specificity of an immune reaction is the essential element defining an antigen-antibody complex. However, the absolute specificity of an antibody in relation to the homologous antigen and the family of related antigens is currently being challenged by the existence of cross-reactions between monoclonal antibodies and unrelated antigens. The concept of specificity and cross-reactivity is possible if we simultaneously take into account the simple structural analogy of two different antigens, the spatial configuration between atoms of the antigen, hypervariable immunoglobulin (antibody) residues and finally the sum of the forces of interactions allowing varying intensities of recognition of a given antigen (affinity).

KEY-WORDS : Allergens – Cross-reactivity.

TOUT INDIVIDU EST APTE À DISCERNER LE SOI ET À RÉAGIR CONTRE LE NON-SOI

Cette aptitude est liée aux lymphocytes B et T capables de distinguer entre des signaux molé-

liaires de l'hôte contre lesquels ils ne réagissent pas en principe et les signaux moléculaires reconnus par l'hôte comme étrangers (Ehrlich).

Cette reconnaissance s'effectue grâce à un répertoire de plusieurs dizaines de millions de configurations moléculaires différentes présentes à la surface des lymphocytes B et T mis en place

Unité d'Immuno-Allergie, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 PARIS Cedex 15.

Communication présentée à la 25^e Journée Parisienne d'Immuno-Allergologie Infantile, novembre 1997.

Tirés à part : Pr B. David (même adresse).

DAVID B. – Antigènes/Allergènes. Spécificité et réactions croisées : un paradoxe ? *Rev. fr. Allergol.*, 1998, **38** (1), 28-36.

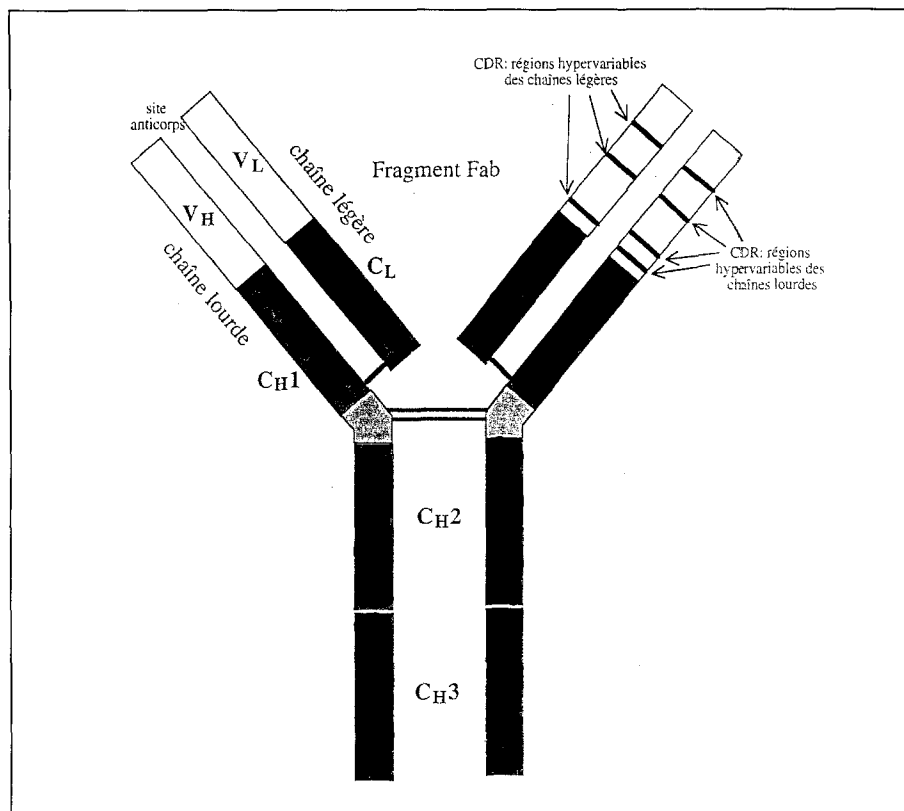


Fig. 1. – Représentation schématique d'une immunoglobuline.
CDR : structure déterminant la complémentarité quand l'anticorps se fixe sur l'antigène.

au cours de l'ontogénèse, c'est-à-dire préexistant à l'arrivée d'antigènes dans l'organisme.

Dans son acception la plus générale, le terme d'**antigène** désigne toute espèce moléculaire d'origine biologique ou synthétique qui au contact de cellules appropriées du système immunitaire d'un organisme animal donné appelé **hôte** ou **receveur** est reconnue par ces cellules. Cette reconnaissance déclenche un processus connu sous le nom de **réaction immunitaire** caractérisée par la prolifération des cellules concernées et la génération d'effecteurs moléculaires libres solubles (anticorps) ou associés aux cellules. Ils se comportent comme de véritables récepteurs (Fragment F(ab) des immunoglobulines, récepteurs T) dont la propriété est de se combiner spécifiquement in vivo (organisme de l'hôte) ou in vitro avec l'antigène qui en a suscité la production. Cet antigène est alors considéré comme immunogène (J. Alouf [1]).

Cette combinaison spécifique avec l'anticorps s'observe également avec des molécules de faible masse moléculaire, non immunogènes appelées haptènes... Lorsque l'haptène est couplé à une molécule porteuse (« carrier »), cet ensemble entre dans la catégorie des antigènes artificiels.

La plus petite structure de l'antigène capable de se combiner à une molécule d'anticorps est appe-

lée **déterminant antigénique** ou **épitope**. Le **complexe antigène-anticorps** est réalisé par un contact entre les atomes ou groupes d'atomes de l'**épitope** et les régions hypervariables des régions VL et VH des chaînes légère et lourde (constituées d'acides aminés) du site de combinaison de l'anticorps ou **paratope** (fig. 1).

Les antigènes (contrairement aux haptènes) sont en général des macromolécules telles les protéines, leurs dérivés glyco-lipo- ou nucléoconjugués ainsi que des polysaccharides. Lorsque les antigènes induisent des anticorps de type IgE chez certains individus, ils prennent le nom d'**allergènes**. **Antigènes et allergènes** sont donc les mêmes molécules et c'est le receveur (allergique) qui fait la différence.

DÉTERMINISME STRUCTURAL DE LA SPÉCIFICITÉ ANTIGÉNIQUE D'UN HAPTÈNE

Le principe de la complémentarité stéréospécifique « clé-serrure » établi par E. Fischer pour le couple enzyme-substrat a été étendu par Paul Ehrlich dès 1895 au couple antigène-anticorps lors

de l'étude de la neutralisation spécifique de toxines bactériennes par les anticorps homologues.

Entre les années 1920 et 1960, deux approches distinctes mais complémentaires devaient contribuer de manière décisive à l'élucidation, sur des bases moléculaires précises, du déterminisme de la spécificité antigénique. La première approche a utilisé comme outil d'étude les antigènes polysaccharidiques (Heidelberger, Kabat) de structure moins complexe que les protéines et la deuxième s'est basée sur le concept d'haptène élaboré par Landsteiner [8]. À la suite de Landsteiner de nombreux immunochimistes (Pauling, Pressmann, Eisen, Karush, Kabat, Dubert, Nisonoff, Makela, etc...) ont considérablement développé l'étude des haptènes comme moyen d'étude de la spécificité fine et du répertoire immunologique. Ces travaux ont contribué (et continuent de le faire) au développement des concepts actuels concernant le mécanisme de la réponse immunitaire et de sa régulation.

Des renseignements fondamentaux sur la nature, la taille et la structure des sites déterminants vrais constitués par l'haptène couplé à la molécule support et par là-même sur celle des déterminants antigéniques présents sur les macromolécules naturelles (**antigènes et allergènes**) ont été obtenus par l'étude de la spécificité des anticorps anti-haptène analysée par les techniques physiques et immunologiques. Les premières études sur les haptènes ont également permis de définir les notions d'immunodominance et de réaction croisée.

NOTION DE GROUPEMENT IMMUNODOMINANT

On appelle groupement **immunodominant** d'un déterminant naturel ou artificiel (dans le cas d'un groupement hapténique) la structure dont la contribution à la spécificité du groupement (en terme de constante d'affinité) est la plus importante. Un antigène naturel comprend en général un nombre assez élevé de déterminants, ce qui entraîne sa **multivalence immunologique** (anticorps distincts dirigés respectivement contre chaque déterminant) étant entendu également que pour un déterminant donné, les anticorps sont hétérogènes par plusieurs de leurs propriétés et parfois pour des régions d'un même déterminant.

Notion de réactivité (ou réaction croisée)

On dit que deux molécules distinctes, par exemple, deux molécules naturelles d'origine bio-

logique, telles que les allergènes, présentent entre elles une **réaction croisée** lorsque l'antisérum obtenu après injection de l'une, donne une **réaction antigène-anticorps** :

- non seulement avec l'espèce moléculaire qui a servi à l'immunisation,
- mais encore avec l'autre espèce moléculaire.

L'existence d'une réaction croisée entre deux espèces moléculaires peut-être due au fait qu'elles possèdent **un ou plusieurs déterminants** présentant entre eux des **analogies de structure suffisante**.

On distingue deux types de réaction croisée pour une molécule antigénique :

1) *identité d'un ou plusieurs sites* : deux antigènes différents portant un ou plusieurs déterminants identiques leur conférant ainsi une **similitude partielle**, donnant des anticorps à réactivité croisée. L'antigène hétérologue ne se combine qu'avec une partie des anticorps capables de réagir avec l'antigène homologue ;

2) *similitude de sites* : un deuxième type de réactivité croisée s'observe avec deux antigènes portant des déterminants qui, **sans être identiques**, ont des **structures du même type, voisines l'une de l'autre**. Chacun d'eux réagit avec les sérums préparés contre l'un d'entre eux, mais il faut alors employer une quantité plus élevée d'antigène hétérologue et d'antigène homologue, pour éliminer les anticorps. Toutefois, l'antigène hétérologue employé en quantité suffisante, finit par épuiser le sérum et par éliminer tous les anticorps précipitables par l'antigène homologue. On admet dans ce cas que l'antigène hétérologue est moins complémentaire du site anticorps que l'antigène homologue.

Molécules chirales

Le concept de **chiralité** caractérise les molécules optiquement actives et les structures dissymétriques ou asymétriques entraînant une orientation spatiale différente des isomères.

Pour ces molécules, la spécificité est stricte et d'une grande finesse, contrairement à la spécificité large de nombreux substituants achiraux. Cela signifie que les cellules immunocompétentes d'un organisme, reconnaissent de manière très spécifique les structures chirales de deux énantiomères de même qu'elles distinguent, les positions ortho, méta et para d'un même groupement. En effet, les anticorps obtenus sont spécifiques d'une seule forme moléculaire. Il en est de même pour les enzymes. Une spécificité étroite analogue s'observe dans l'isométrie géométrique cis-trans (exemples : acide tartrique, acide D ou L-phényl acétique) (fig. 2).

	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HOCH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{HCOH} \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
Ag testés :			
Ac. l-tartrique	+++	0	±
Ac. d-tartrique	0	+++	±
Ac. m-tartrique	±	0	+++

Fig. 2. – Spécificité stricte des anticorps anti-acide tartrique.

	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-\text{HC} \\ \quad \quad \\ \text{O}=\text{C} \quad \quad \text{N} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{C}-(\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
Haptènes :	R	K_{rel} : (Affinité)
1. Pc G (Pénicilline G)		1,0
2. 2-Thényl Pc		1,0
3. m-Cl-benzyl Pc		5,17
4. Pc V		0,48
5. p-NO2-benzyl Pc		0,115
6. Propicilline		0,071
7. Méthyl Pc	CH ₃	0,009

Fig. 3. – Réactivités croisées : exemple des dérivés pénicillines hapténiques et des anticorps anti-benzylpénicilloyl.

Glucosides

De même, la réactivité des anticorps homologues et hétérologues vis-à-vis d'oses isomériques (a et b D-glucose, b-galactose) et de quelques diosides de ces deux hexoses (cellobiose, maltose, gentiobiose et lactose) montre une spécificité très stricte ou relativement stricte selon les structures considérées (fig. 3).

Affinité des anticorps antipénicilline pour divers ligands

Un exemple typique est donné avec des anticorps de lapin antibenzylpénicilloyl vis-à-vis de divers ligands. On observe que le noyau thiophène possède la même affinité que le noyau benzène (K_{rel} = 1) et que le contour du m-chlorobenzène serait le déterminant réel (fig. 4).

Deux types de réaction peuvent être distingués, dans le premier cas les deux ligands réagissent avec le **même site d'une molécule d'anticorps** et dans le deuxième cas l'antigène réagit seulement avec une partie des anticorps contenus dans l'antisérum c'est-à-dire si l'antisérum contient une **minorité** d'anticorps de haute affinité donnant lieu à une forte réaction croisée [3].

En définitive, si la présence de groupements acides ou basiques sur une molécule hapténique lui conférant une charge électrique négative ou positive est un facteur critique de la spécificité, on peut retenir également que la spécificité du déterminant antigénique dépend non seulement de la **nature chimique** des atomes qui le constituent, mais de leur orientation réciproque dans l'espace.

STRUCTURE MOLÉCULAIRE D'UN ANTIGÈNE PROTÉIQUE

Comme pour les haptènes, la réactivité antigénique d'une protéine réside dans une série de régions de surface de la molécule (épitopes) qui se combinent d'une manière spécifique avec les sites de liaison d'anticorps appropriés (paratope) (fig. 5).

Chaque épitope peut se lier à différents paratopes et vice versa. Le caractère multispécifique et polyfonctionnel des paratopes est clairement illustré par le phénomène de l'hétérospécificité, c'est-à-dire la capacité d'un anticorps de se lier plus fortement à d'autres antigènes qu'à celui qui a servi à induire les anticorps chez l'animal immunisé (c'est le même principe que celui décrit pour définir la réaction croisée en utilisant des haptènes).

On distingue souvent des catégories d'épitopes sur une base conceptuelle sans que cela corresponde nécessairement à une réalité opérationnelle [12], soit des épitopes conformationnels, soit des épitopes linéaires.

Les deux approches structurale et fonctionnelle de l'étude de l'antigénicité des protéines conduisent à une vue assez différente de la nature des épitopes. L'approche structurale se focalise sur l'arrangement spatial des atomes dans le complexe antigène-anticorps et révèle la présence d'environ 15-22 résidus dans l'épitope ainsi que dans le paratope [10]. En calculant le changement d'énergie libre qui accompagne la formation du complexe

	β -maltose	β -gentobiose	β -lactose
Antigènes testés			
β -maltoside	++++	+++	+
β -gentiobioside	+	+++	+
β -lactoside	+	+	+++
β -glucoside	++	++	0
β -galactoside	0	0	+

Spécificité relativement stricte selon les structures considérées

Fig. 4. – Spécificité des immunosérums dirigés contre les diosides.

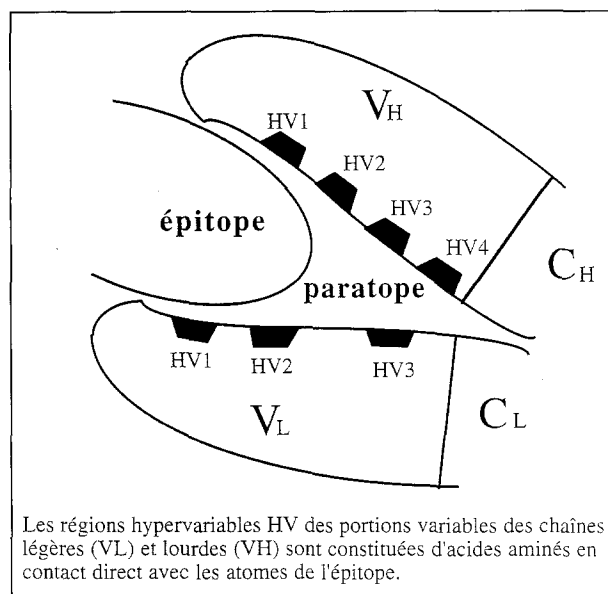


Fig. 5. – Représentation schématique du site de liaison de l'anticorps (paratope) avec l'épitope antigénique.

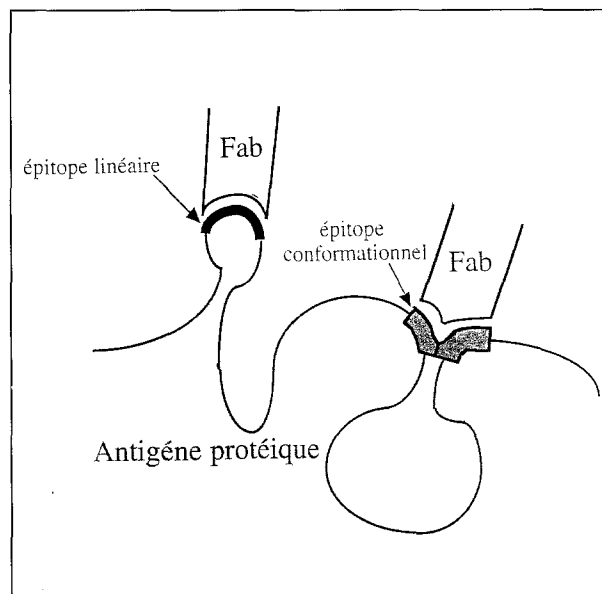


Fig. 6. – Épitopes linéaire et conformationnel.

antigène-anticorps, il s'avère que l'épitope « énergétique » contribuant à l'énergie de liaison ne comprend qu'environ 5 résidus [9]. L'approche fonctionnelle introduit la dimension additionnelle du temps et conduit à une vision de l'épitope constitué par un nombre faible [1, 5] de résidus.

En conclusion, avant sa présentation à une cellule présentatrice, comme par exemple, macrophage, cellule dendritique ou mastocyte, l'antigène dans sa conformation dans l'espace, joue un rôle important et définira de cette manière une réponse anticorps qui sera soit linéaire, soit conformationnelle.

Dans le cas d'une réponse linéaire, l'anticorps reconnaît un antigène de structure définie d'au moins 6 acides aminés et les deux sites de l'anticorps, c'est-à-dire la partie NH₂ terminale, sont fixés sur cet ensemble de séquences.

Dans le cas d'une réponse conformationnelle, la molécule d'immunoglobuline peut avec ces deux sites, reconnaître des structures éloignées, si la molécule est enroulée, mais rapprochée dans sa structure spatiale (fig. 6).

Les **repliements de la protéine** sont donc d'un caractère capital en terme d'épitope pour définir ce que reconnaît la molécule d'anticorps.

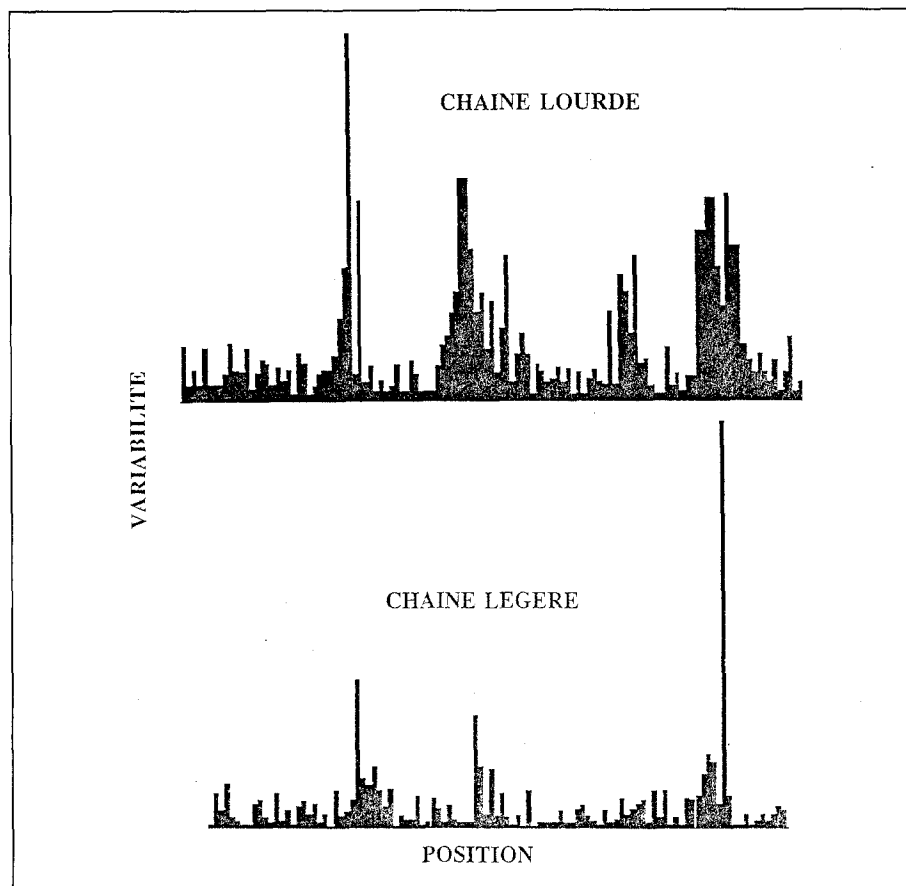


Fig. 7. – Distribution de la variabilité des acides aminés des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines (d'après T.T. Wu, E.A. Kabat, J. Exp. Med., 1971, 132, 211).

INTERACTION ANTIGÈNE-ANTICORPS ET RÉACTIONS CROISÉES

Deux modèles s'opposent : celui de la clé et de la serrure (modèle statique) et celui de l'ajustement induit (modèle dynamique) [5]. Le modèle de l'ajustement est basé en partie sur des observations concernant la corrélation entre des régions de mobilité (amplitude de 1-2 Å) dans les protéines et la position de régions peptidiques courtes réagissant avec des anticorps anti-protéines de manière croisée [6].

Ces nouvelles structures d'immunoglobulines sont apparues dans la diversité des réponses à l'égard d'un épitope. Elles se situent sur les régions hypervariables (fig. 7) H1, H2, H3, L1, L2 et L3 et se présentent sous forme de boucle [13]. Chaque boucle présente un nombre limité de conformation. Ces structures sont appelées **canoniques** [4]. Elles sont importantes dans la recon-

naissance de l'antigène, car elles ont une conformation spatiale variable selon que les épitopes sont portés par un haptène ou par une molécule de protéine totale. Les antigènes de taille importante comme les protéines sont reconnus par des anticorps qui ont des boucles courtes en H2 et L1. Les petites molécules sont plutôt reconnues par des anticorps qui ont des boucles longues en H2 et L1.

Dans ces conditions, l'affinité est fonction du degré de complémentarité entre l'antigène et l'anticorps, qui fait intervenir un ensemble complexe d'interactions, d'une part, les liaisons hydrogènes, les liaisons électrostatiques et d'autre part, associant l'anticorps à l'antigène. Dans la complexité de ce type de réponse sont impliquées les chaînes latérales de résidus, les réarrangements conformationnels des régions déterminant la complémentarité (CDR) quand l'anticorps vient se fixer (fig. 1 et 5).

Ces nouvelles données montrent que le système clé/serrure est maintenant très largement battu en

brèche au profit d'une conception antigène/anticorps comme un modèle dynamique et non statique. Ce qui naturellement dans la diversité des anticorps, amène de l'eau au moulin quant à la validité des réactions croisées pour des antigènes et des allergènes dont les épitopes sont très voisins.

SPÉCIFICITÉ, RÉACTIVITÉS CROISÉES, AFFINITÉ

Considérant plusieurs épitopes hydrophiles très immunogènes et séquentiellement accolés, on peut estimer qu'un organisme de mammifère peut répondre par chevauchement en terme d'anticorps spécifiques (fig. 8 et 9). Ceci signifie qu'un anticorps peut, par exemple, reconnaître un épitope de 6 acides aminés avec une affinité très élevée, à titre d'exemple, de l'ordre de $10^{-10}M$ et un anticorps voisin peut également reconnaître le premier épitope mais avec une affinité beaucoup plus faible. Ceci peut aller jusqu'à une diminution de 2 ou 3 log.

Dans la pratique, ceci s'exprime par le fait que si l'on examine, à l'égard de son antigène, le premier anticorps de $10^{-10}M$, il peut reconnaître une structure à des dilutions très élevées, par exemple 10^{-6} . À cette dilution, le second anticorps ne reconnaît pas le premier antigène ; par contre, si l'on diminue la dilution de deux log, par exemple,

il se peut que l'anticorps n° 2 reconnaisse l'antigène n° 1. Ceci indique que les réactivités croisées, en terme d'épitopes linéaires restreints, sont aléatoires et sont conditionnées par d'autres caractères immuno-chimiques des immunoglobulines.

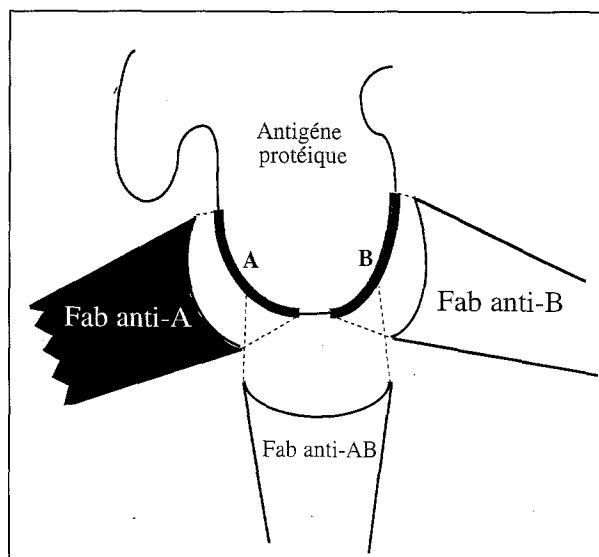


Fig. 8. — Épitopes linéaires : anticorps chevauchant.

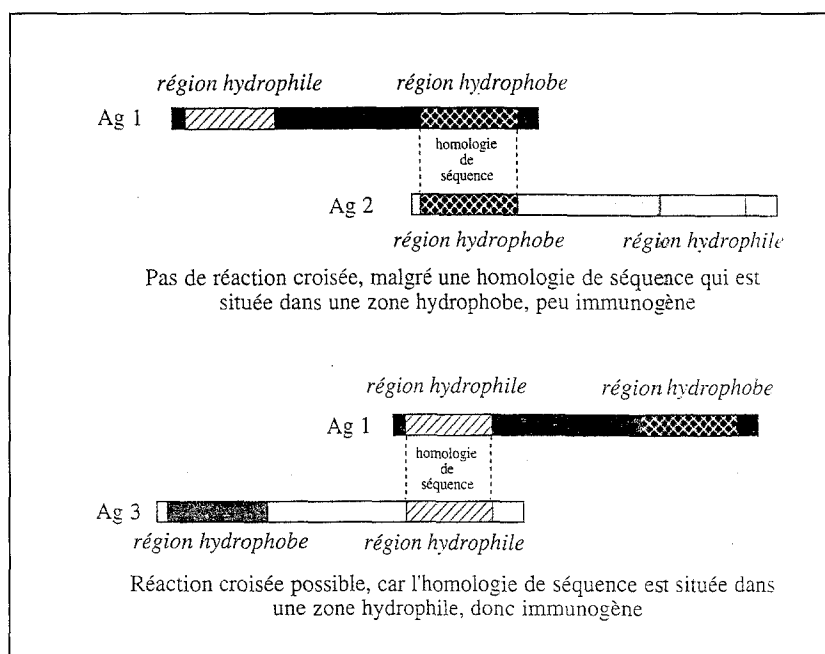


Fig. 9. — Homologie de séquence et réactions croisées. Il n'y a pas nécessairement réaction croisée lorsqu'il y a homologie de séquence.

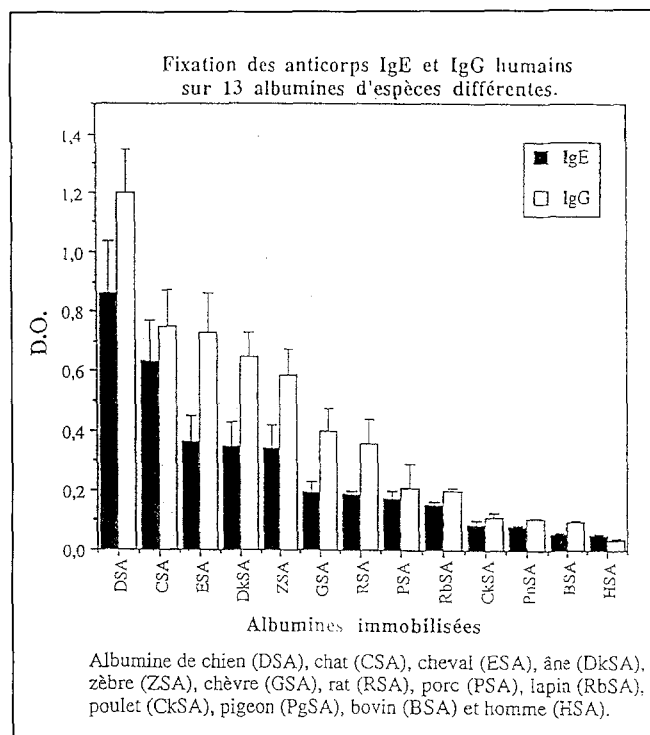


Fig. 10. - Réaction croisée : albumines animales (I) (d'après Goubran-Botros et al., Immunology, 1996, 88).

CONCLUSIONS

Les réactions immunitaires tirent leur originalité de leur haute spécificité et cette spécificité est l'élément essentiel de la définition des antigènes et des anticorps (J.F. Bach [2]). Mais pour reprendre la définition de Landsteiner, cette spécificité correspond à « l'action disproportionnelle de plusieurs anticorps apparentés vis-à-vis d'haptènes apparents ». On aboutit donc à la notion de réaction croisée qui traduit une communauté de conformations spatiales d'épitopes de deux molécules d'antigènes différentes. Cependant compte tenu de la variabilité des anticorps et de l'extrême diversité des antigènes reconnus, un autre élément essentiel responsable de la liaison de l'antigène est dû aux données structurales de la partie variable des immunoglobulines (résidus hypervariables). La spécificité représenterait donc un concours de circonstances entre une molécule d'anticorps avec certains résidus et les atomes de l'antigène. C'est la somme des forces d'interaction qui détermine la reconnaissance plus ou moins forte d'un antigène donné (affinité).

Récemment le problème de la spécificité absolue d'un anticorps pour l'antigène homologue et la famille d'antigènes apparentés a été remis en question pour les observations hétérodoxes de réactions croisées d'anticorps (éventuellement

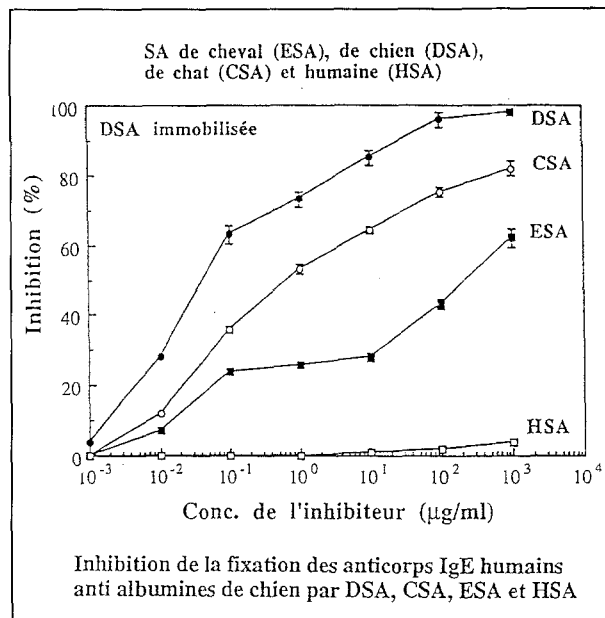


Fig. 11. - Réaction croisée : albumines animales (II) (d'après Goubran-Botros et al., Immunology, 1996, 88).

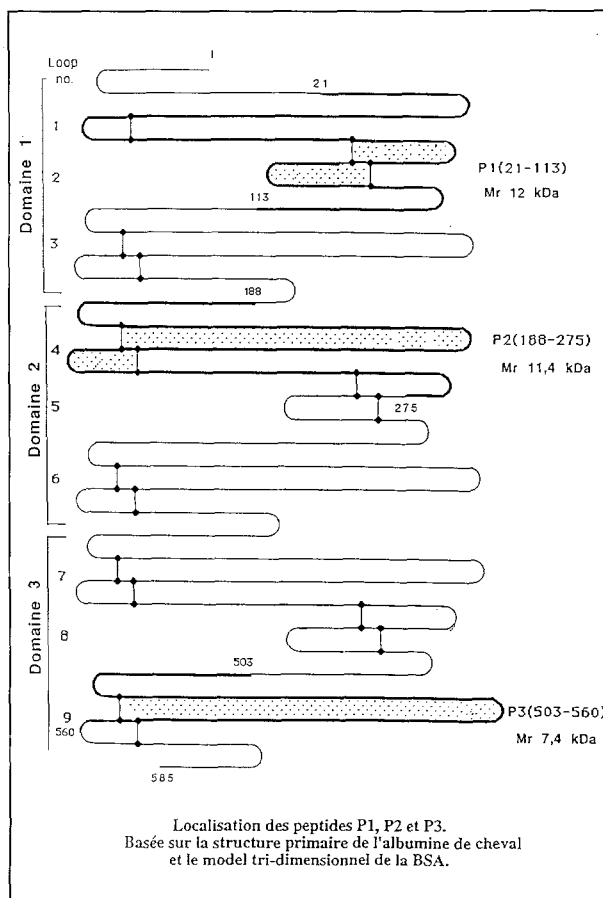


Fig. 12. - Albumine de cheval : peptides « allergéniques » (d'après Goubran-Botros et al., Immunology, 1996, 88).

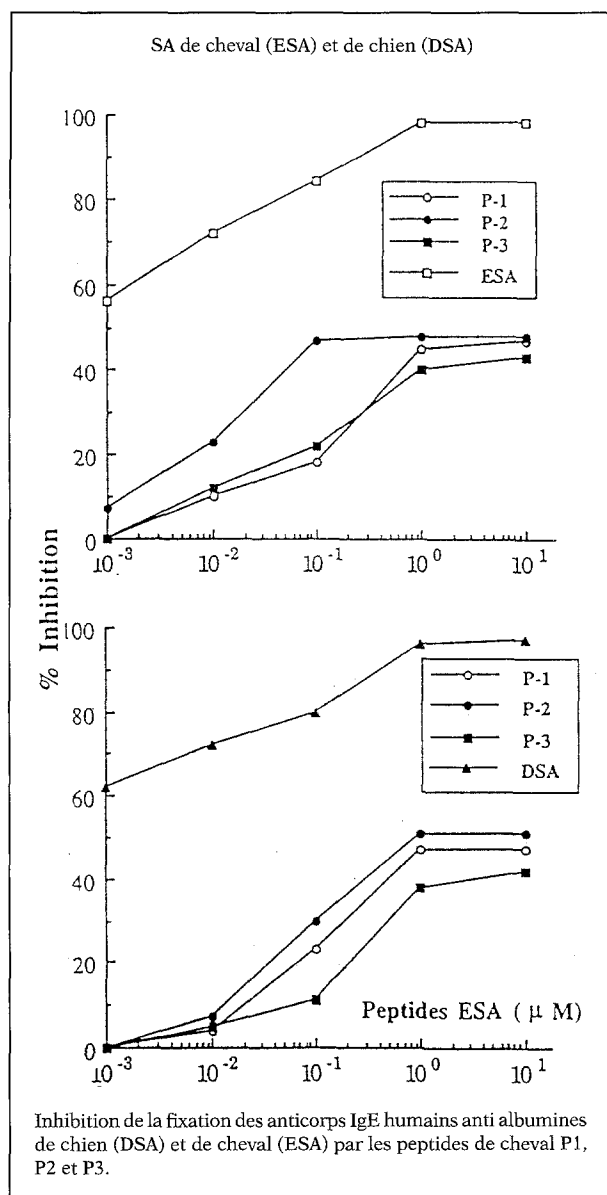


Fig. 13. — Peptides allergéniques de l'albumine de cheval. Réactions croisées avec l'albumine de chien (d'après Goubran-Botros et al., *Immunology*, 1996, 88).

monoclonaux) vis-à-vis d'antigènes non apparentés à l'antigène homologue et très différents comme l'actine, la myosine et l'albumine. De même il a été montré que des anticorps monoclonaux anti-ADN réagissaient avec des phospholipides. Enfin des travaux réalisés par R. Poljak et Réchards ont mis en évidence que le fragment Fab de la protéine du myélome New pouvait se lier à l'unidine, l'orcéine mais aussi à la vitamine K [11].

La spécificité et la réactivité croisée sont concevables à partir du moment où on fait intervenir d'une part la simple analogie de structure de 2 antigènes différents et d'autre part les surfaces de taille variable dont la configuration spatiale crée des forces de liaison chimique très fortes.

Peut-on alors parler, au lieu de réaction croisée, de spécificité partagée ?

Cette spécificité partagée d'antigènes est valable pour les motifs allergéniques [7] comme le démontrent les figures 10, 11, 12, 13.

Je remercie J.C. Mazié (Laboratoire Hybridolab Institut Pasteur), Pedro Alzari (Immunologie structurale (Institut Pasteur) et Pascal Poncet (Unité d'Immuno-Allergie, Institut Pasteur) de leur collaboration.

OUVRAGES GÉNÉRAUX

1. Cours d'Immunologie Générale de l'Institut Pasteur (1996).
2. Traité d'Immunologie (Bach J.F.), éd. Flammarion, Médecine-Sciences, 1993.

RÉFÉRENCES

3. Berzofsky J.A., Berkower I.J. — Antigen-antibody interaction. In: We Paul, *Fundamental immunology*. New York, Raven Press, pp. 595-644, 1984.
4. Chotia C., Lesk A.M., Tramontano A., Levitt M., Smith-Gill S.J., Air G., Sheriff S., Padlan E.A., Davies D., Tulip W.R., Colman P.M., Spinelli S., Alzari P.M., Poljak R.J. — Conformations of immunoglobulin hypervariable regions. *Nature*, 1989, 342, 877-883.
5. Getzoff E.D., Tainer J.A., Lerner R.A., Geysen H.M. — The chemistry and mechanism of antibody binding to protein antigens. *Adv. Immunol.*, 1988, 43, 1-98.
6. Geysen H.M., Tainer J.A., Rodda S.J., Mason T.J., Alexander H., Getzoff E.D., Lerner R.A. — Chemistry of antibody binding to a protein. *Science*, 1987, 235, (4793), 1184-1190.
7. Goubran-Botros H., Grégoire C., Rabillon J., David B., Dandeu J.P. — Cross-antigenicity of horse serum albumin with dog and cat albumins: study of three short peptides with significant inhibitory activity towards specific human IgE and IgG antibodies. *Immunology*, 1996, 88, 340-347.
8. Landsteiner K. — The specificity of serological reactions. 2^e ed. Harvard Univ. Press, New York, 1962.
9. Novotny J., Bruccoleri R.E., Saul F.A. — On the attribution of binding energy in antigen-antibody complexes McPC 603, D1.3, and HyHEL-5. *Biochemistry*, 1989, 28, 4735-4749.
10. Padlan E.A. — In: Structure of Antigens. Vol. 1. Van Regenmortel, MHV, ed., CRC Press, Boca Raton, pp. 29-42, 1992.
11. Poljak R.J. — X-Ray diffraction studies of immunoglobulins. *Adv. Immunol.*, 1975, 21, 1-33.
12. Van Regenmortel M.H.V. — In: Structure of Antigens. Vol. I. Van Regenmortel M.H.V., ed. CRC Press, Boca Raton, pp. 1-27, 1992.
13. Wu T.T., Kabat E.A. — An analysis of the sequences of the variable regions of Bence-Jones proteins and myeloma light chains and their implication for antibody complementarity. *J. Exp. Med.*, 1970, 132, 211-250.