

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي.

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴻⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵔⴰⵎⴰⵏⵜ ⵜⴰⵖⴰⵏⵜ ⵜⴰⵙⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴰⵏⵜ ⵜⴰⵔⴰⵎⴰⵏⵜ

جامعة أبي بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et l'Univers

Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

MAIDRI ILHEM ET BELHASSAINE CHAIMAA

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER en IMMUNOLOGIE

Thème :

Interaction Moléculaire entre la Bromélaïne et la CD28 : Une Approche In Silico

Soutenu le 22/06/2026 devant le jury composé de :

Présidente :	DIDI AMEL	Grade : MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice :	CHARIF NAIMA	Grade : MCB	Université de Tlemcen
Encadrante :	DJELTI FARAH	Grade : MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2025/2026

Résumé :

Cette recherche se propose d'analyser les mécanismes d'interaction moléculaire entre la bromélaïne, une enzyme protéolytique issue de l'ananas, et le récepteur CD28, un régulateur co-stimulateur fondamental de la réponse immunitaire adaptative. À travers une méthodologie de docking moléculaire *in silico*, nous avons exploré les configurations de liaison potentielles tout en identifiant les acides aminés déterminants au niveau de l'interface de contact protéique. Nos simulations mettent en évidence des modes d'association particuliers avec des constantes d'affinité théoriques se situant dans l'échelle nanomolaire, ce qui laisse présager une liaison à la fois stable et hautement spécifique. Bien que ces données demeurent exploratoires, elles ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques pour la modulation de la voie CD28 dans le cadre de maladies auto-immunes ou inflammatoires. Des validations expérimentales rigoureuses par résonance plasmonique de surface (SPR) ou calorimétrie Isotherme de Titration (ITC) sont indispensables pour confirmer ces résultats. De plus, des essais *in vitro* et *in vivo* devront évaluer l'influence de la bromélaïne sur l'activation lymphocytaire. Enfin, une caractérisation par cristallographie au rayon x ou cryo-EM apporterait une compréhension structurale précieuse.

Abstract:

This research investigates the possible molecular cross-talk between pineapple-derived bromelain and the CD28 receptor, a pivotal co-stimulatory molecule in T-cell mediated immunity. Utilizing a computational molecular docking strategy, we systematically examined potential docking configurations and pinpointed essential residues situated at the protein-protein interface. The findings indicate unique binding orientations characterized by nanomolar predicted affinities, which point toward a specific and robust interaction between these molecules. Although these early results necessitate stringent experimental confirmation using high-precision methods like Surface Plasmon Resonance (SPR) or Isothermal Titration Calorimetry (ITC), they suggest innovative therapeutic paths for modulating CD28 activity in the treatment of various immune-related disorders. Subsequent *in vitro* and *in vivo* assessments are vital to determine bromelain's direct influence on T-cell activation and to verify its performance in preclinical models. Moreover, detailed structural mapping via X-ray crystallography or cryo-electron microscopy would yield indispensable insights.

ملخص :

تستهدف هذه الدراسة البحث في التفاعلات الجزيئية الكامنة بين البروميلين، وهو إنزيم بروتيني مستخلص من ثمار الأناناس، ومستقبل **CD28** الذي يلعب دوراً محورياً في التنشيط المناعي التكيفي. تم توظيف استراتيجية الإرساء الجزيئي (in silico) لدراسة آليات الارتباط المفترضة ورصد الأحماض الأمينية الأساسية في منطقة التلامس البروتيني. وقد كشفت التحليلات عن نماذج ارتباط نوعية وبقوة ألفة تقع ضمن نطاق النانومولار، ما يشير إلى تكوين معقد مستقر ودقيق. وبالرغم من كون هذه النتائج استكشافية، إلا أنها تفتح آفاقاً واعدة لتطبيقات علاجية تركز على تعديل نشاط **CD28** في مواجهة الأمراض الالتهابية والمناعية المزمنة. وتظل الحاجة قائمة لإجراء تحقق تجريبي معمق باستخدام تقنيات مثل رنين البلازمون السطحي (SPR) أو قياس السرعات بالمعايرة الحرارية (ITC) ، إلى جانب دراسات مخبرية وحيوية لتقييم تأثير البروميلين على إنتاج السيتوكينات وتنشيط الخلايا التائية في النماذج قبل السريرية. كما أن تحديد البنية الفراغية لهذا التفاعل عبر علم البلورات أو المجهر الإلكتروني بالتبريد سيوفر تفاصيل هيكلية جوهرية لتعزيز هذه الفرضيات العلمية

Remerciement

Notre profonde gratitude va d'abord à Allah, qui nous a accordé la force, la patience et la guidance nécessaires pour mener à bien ce travail de thèse. Ce témoignage reflète notre foi et notre humilité.

*On tiens à exprimer nos remerciements les plus sincères à **Dr. Farah Djelti**, notre encadrante, pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils éclairés. Son accompagnement constant, sa bienveillance et son exigence pédagogique n'ont permis de progresser et de donner le meilleur de nous-même.*

*Nos remerciements s'adressent également à **M. Mourad Aribi**, Directeur du Laboratoire BIOMOLIM, pour son soutien. Nous exprimons enfin notre gratitude aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer ce travail et consacré de leur temps à cette tâche. Leur expertise et leurs remarques seront précieuses pour enrichir et approfondir notre recherche.*

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à Madame **Didi Amel**, la Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de diriger et d'évaluer ce travail. Sa disponibilité et son regard critique constituent pour nous une marque de confiance et une source d'enrichissement scientifique.*

*Nos remerciements vont enfin à Madame **Charif Naima**, l'Examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'attention portée à notre recherche. Ses remarques et suggestions seront précieuses pour améliorer et approfondir nos perspectives scientifiques.*

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

- *À mes très chers parents, qui m'ont toujours encouragée et soutenue et surtout d'avoir cru en moi.*
 - *À mon frère Amine et ma petite sœur Inès.*
- *À ma très chère grande-mère, une source d'inspiration constante*
 - *À la mémoire de mes grands-parents maternels.*
 - *À mon feu grand-père paternel*
- *À ma chère cousine Imène, son mari Hamid et leurs enfants.*
- *À toutes mes tantes et mes oncles, mes cousines et cousins.*
 - *À mes très chères amies : Ibtissem et Merwa.*
 - *À mon binôme : Chaimaa*

MAIDRI ILHEM

Dédicace

*Je **dédie** ce travail avant tout à la mémoire de **mon père**, que j'aime éternellement. Ton souvenir est une lumière qui guide mes pas et je ne t'oublierai jamais ; tu restes vivant dans mon cœur à chaque instant. Tu as été mon premier amour et tu seras toujours ma plus grande fierté. Puisse ce mémoire honorer les valeurs que tu m'as transmises.*

***À ma mère**, mon pilier, pour son amour, son soutien indéfectible et merci pour tous les sacrifices consentis pour faire de moi ce que je suis aujourd'hui.*

***À ma sœur**, qui est bien plus qu'une sœur pour moi ; tu es ma deuxième mère, ma meilleure amie, ma force et mon tout. Merci d'avoir été mon refuge à chaque étape.*

***À toute ma famille et à mes chères cousines**, pour leur affection et leurs encouragements constants.*

***À ma meilleure amie**, ma complice de toujours, qui m'accompagne avec la même fidélité depuis nos toutes premières années d'école. Merci d'être à mes côtés dans chaque défi.*

***À ma chère binôme**, je dédie ce travail en témoignage de notre complicité et de nos efforts partagés, Merci pour ton soutien constant, ta patience et ton engagement tout au long de ce parcours.*

***À mes amis** et mon groupe de l'université, pour la solidarité et les moments inoubliables partagés durant ce parcours.*

BELHASSAINE CHAIMAA

Liste d'abréviations :

Immunologie :

- **ACT** : Adoptive Cell Therapy (Thérapie cellulaire adoptive)
- **AKT** : Protein Kinase B (Protéine kinase B)
- **CPA** : Cellule Présentatrice d'Antigène (ou **APC** en anglais)
- **CAR-T** : Chimeric Antigen Receptor T-cells (Lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique)
- **CD** : Cluster de Différenciation (ex: CD28, CD80, CD86)
- **CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité (ou **MHC** en anglais)
- **CTLA-4** : Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4
- **IFN- γ** : Interféron gamma
- **IgV** : Domaine variable des Immunoglobulines
- **IL** : Interleukine (ex: IL-2, IL-6, IL-1 β)
- **ITC** : Isothermal Titration Calorimetry (Calorimétrie par titration isotherme)
- **JNK** : c-Jun N-terminal Kinase
- **Lck** : Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase
- **LT / LB** : Lymphocyte T / Lymphocyte B
- **MAPK** : Mitogen-Activated Protein Kinases
- **NFAT** : Nuclear Factor of Activated T-cells
- **NF- κ B** : Nuclear Factor-kappa B
- **NLRP3** : NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (Inflammasome)
- **NO** : Oxyde Nitrique
- **PI3K** : Phosphoinositide 3-kinase
- **PTM** : Post-Translational Modifications (Modifications post-traductionnelles)
- **SPR** : Surface Plasmon Resonance (Résonance Plasmonique de Surface)
- **TCR** : T-Cell Receptor (Récepteur des cellules T)
- **TNF- α** : Tumor Necrosis Factor-alpha
- **Treg** : Lymphocyte T régulateur
- **ZAP70** : Zeta-chain-associated protein kinase 70

Bioinformatique :

- **PDB** : Protein Data Bank
- **RMSD** : Root mean square deviation
- **MM/GBSA** : Molecular mechanics/generalized Born surface area
- **HADDOCK** : High Ambiguity Driven protein-protein DOCKing
- **BSA** : Buried Surface Area

Liste des figures :

TITRE	PAGE
Figure 1 : La représentation schématique de la structure du récepteur CD28 et de la signalisation co-stimulatrice dans l'activation des lymphocytes T.	4
Figure 2 : Le schéma des mécanismes moléculaires d'activation de CD28 et leurs implications dans la réponse immunitaire des lymphocytes T.	6
Figure 3 : la structure cristallographique de la bromélaïne de l'Ananas comosus en complexe avec l'inhibiteur E64 d'après la base de donnée (PDB ID : 6YCF).	10
Figure 4 : Les mécanismes d'action pléiotropes de la bromélaïne dans la résolution de l'inflammation.	12
Figure 5 : Les mécanismes d'immunomodulation de la bromélaïne sur les réponses innées et adaptatives .	15
Figure 6 : Les mécanismes moléculaires de l'activité antitumorale de la bromélaïne impliquant la modulation des voies MAPK, Akt, NF-κB et Cox-2.	16
Figure 7 : Les quatre phases fondamentales d'amarrage moléculaire protéine-protéine..	19
Figure 8 : Caractérisation structurale, modélisation par homologie et comparaison tridimensionnelle de la bromélaïne et du récepteur CD28.	41
Figure 9 : Organigramme méthodologique d'une étude de modélisation moléculaire et d'interaction in silico.	44
Figure 10 : Préparation de la protéine CD28 pour le docking moléculaire	45
Figure 1:Graphique Ramachandran de la bromélaïne généré par modelisation en homology par swiss model montrant les résidus dans les régions les plus favorisées.	57
Figure 12: Représentation de l'interaction incluant l'hydrogène et les ponts salins (par le serveur pdbsum).	64

Figure 13 : Analyse structurale tridimensionnelle (3D) du complexe de docking protéine-protéine CD28 humaine (PDB ID : 1YJD, cyan) et bromélaïne (vert) et cartographie des interactions moléculaires interfaciales clés.	65
---	-----------

Liste des tableaux :

TITRE	PAGE
Tableau 1 : Récapitulatif des ressources bioinformatiques et des serveurs web mobilisés pour la modélisation et la validation structurale de CD28.	39
Tableau 2 : Évaluation de la Conformité Stéréochimique et Topologique de l'Architecture Moléculaire [Bromélaïne]	55
Tableau 1:Comparatif des Acides Aminés Prédits pour CD28(1yjd) et la Bromélaïne (6YCF)	61
Tableau 4: Interactions par Liaisons Hydrogène entre la Bromélaïne (Chaîne A) et CD28 (Chaîne C)	62
Tableau 5 : Interactions par Ponts Salins entre la Bromélaïne (Chaîne A) et CD28 (Chaîne C)	63

Table des matières :

Résumé :	2
Abstract:	3
ملخص :	4
Remerciement.....	5
Dédicace.....	6
Liste d'abréviations :	8
Liste des figures :	10
Liste des tableaux :	12
Table des matières :	13
Introduction.....	18
Chapitre I : Revue de la littérature	2
1 Le Récepteur CD28 : Mécanismes d'Activation et Rôle dans l'Immunité Adaptative	3
1.1 Le récepteur CD28 : Un régulateur clé de la réponse immunitaire adaptative.....	3
1.1.1 Structure et Fonction du CD28	3
1.1.2 Rôle dans l'Immunité	4
1.2 Activation de CD28 : Mécanismes moléculaires et implications pathologiques :	5
1.2.1 Activation initiale de CD28 : Sensibilisation au signal de costimulation.....	6
1.2.2 Activation de CD28 : Formation du complexe de signalisation lymphocytaire.....	7
1.2.3 Implications physiopathologiques du récepteur CD28.....	8
1.2.4 Perspectives thérapeutiques	8
2 La Bromélaïne : Caractéristiques Biochimiques et Capacités de Régulation Immunitaire	9
2.1 La Bromélaïne de l'Ananas : Architecture Moléculaire et Profil Pharmacologique	9
2.1.1 Organisation Structurale et Éléments Constituants	9
2.1.2 Attributs et Activités Pharmacodynamiques :	11
2.2 Potentiel Immunomodulateur de la Bromélaïne : Modes d'Action et Contrôle de la Réponse Inflammatoire	13
2.2.1 Processus Physiopathologiques Induits par la Bromélaïne	13
2.2.1.1 Inhibition de la Synthèse des Cytokines Pro-inflammatoires.....	13
2.2.1.2 Régulation Fonctionnelle des Lignées Monocytaires et Macrophagiques :13	
2.2.1.3 Impact sur l'Homéostasie des Lymphocytes T et B :	14

2.2.1.4	Modulation des Mécanismes de l'Autophagie Cellulaire :	15
2.2.2	Usages Thérapeutiques et Évidences Cliniques Contemporaines :	16
2.2.3	Résultats Cliniques Récents :	17
3.	Modélisation In Silico des Interactions Protéine-Protéine : Méthodes et Applications :	17
3.1	Principes du Docking Protéine-Protéine : Approches de Modélisation Moléculaire pour Étudier les Interactions Bromelain-CD28.....	17
3.1.1	Principes du Docking Protéine-Protéine :.....	18
3.1.2	Application du Docking à l'Étude des Interactions Bromelain-CD28 :	20
3.2	Apports du docking moléculaire à l'analyse structurale des interactions immunitaires :.....	20
3.2.1	Caractérisation moléculaire des interactions entre les complexes immunitaires et les agents modulateurs :	21
3.2.2	Conception et optimisation de stratégies immunomodulatrices de précision.....	21
3.2.3	Ingénierie des stratégies vaccinales et des approches d'immunothérapie cellulaire.....	22
4.	Enjeux en Immuno-intervention et Vaccinologie : Émergence de Nouvelles Stratégies de Modulation	23
4.1.	Apports Théoriques et Pratiques du Criblage In Silico des Interactions Bromélaïne-CD28	23
4.1.1	Simulation des Affinités Moléculaires pour le Ciblage des Pathologies Inflammatoires :	23
4.1.2	Conception de Protocoles de Régulation Immunitaire de Précision :	24
4.1.3.	Optimisation de l'Utilisation du Bromelain en Immunothérapie :	24
4.2.	Perspectives Cliniques : Bromelain Comme Adjuvant dans les Thérapies et la Conception de Vaccins :	25
4.2.1.	Bromelain comme Adjuvant Immunitaire dans des Thérapies Innovantes :	25
4.2.1.1	Applications en Oncologie Thérapeutique :	26
4.2.1.2	Prise en Charge des Maladies Auto-immunes :	26
4.2.2	Rôle de la Bromélaïne dans l'Élaboration de Systèmes Vaccinaux Inédits	27
4.2.2.1	Optimisation de la Réactivité Immunitaire Post-vaccinale :	27
4.2.2.2	Renforcement de la Réponse Induite par les Vaccins Anticancéreux	27
4.3	Évaluation de l'Innocuité et des Performances Cliniques de la Bromélaïne :	28
5	États des lieux et perspectives de la recherche en immunologie : analyse des limites et des défis contemporains	28
5.1	Identification des verrous scientifiques et des zones d'ombre :	28
5.1.1	Régulation post-traductionnelle de CD28 et impact de la bromélaïne : enjeux moléculaires et perspectives thérapeutiques	29

5.1.2	Caractérisation des isoformes de CD28 et de leur rôle dans la modulation immunitaire :	29
5.1.3	Évaluation préclinique et validation <i>in vivo</i> de l'impact de la bromélaïne sur la signalisation CD28 :	30
5.1.4	Intégration de CD28 au sein des réseaux d'interactions complexes du microenvironnement cellulaire :	30
5.1.5	Modulation de la pyroptose par la bromélaïne :	31
5.2	Perspectives pour les Recherches Numériques et Expérimentales Futures	31
5.2.1	Perfectionnement des Modèles Bioinformatiques et des Algorithmes d'Amarrage (Docking) :	32
5.2.2	Implémentation de la Modélisation Prédictive via l'IA et l'Apprentissage Automatique :	32
5.2.3	Développement de Nouveaux Modèles In Vivo et Protocoles Cliniques :	33
5.2.4	Méthodologies de Personnalisation des Protocoles Thérapeutiques :	33
5.2.5	Validation en Milieu Clinique et Phases de Développement de Nouvelles Formulations Médicamenteuses :	34
Chapitre II : Matériel et méthodes		35
1	Identification des Séquences et Criblage d'Homologues :	Erreur ! Signet non défini.
1.1.	Homology medeling de la bromélaïne :	Erreur ! Signet non défini.
1.1.1	Récupération de la séquence primaire de la bromélaïne:	Erreur ! Signet non défini.
1.1.2.	Recherche de similarités séquentielles via l'algorithme BLAST:	Erreur ! Signet non défini.
2.	Prédiction Structurale par Homologie avec Swiss model :	Erreur ! Signet non défini.
2.1	Paramétrage et soumission des données sur Swiss model :	Erreur ! Signet non défini.
2.2.	Analyse et sélection de la conformation initiale :	Erreur ! Signet non défini.
3.	Optimisation du Modèle via GalaxyRefine :	Erreur ! Signet non défini.
3.1.	Processus de raffinement moléculaire :	Erreur ! Signet non défini.
3.2.	Évaluation et choix de la structure optimisée :	Erreur ! Signet non défini.
4.	Protocoles de Validation Structurale :	Erreur ! Signet non défini.
4.1.	Examen stéréochimique par PROCHECK (SAVES):	Erreur ! Signet non défini.
4.2.	Analyse ERRAT (SAVES)	Erreur ! Signet non défini.
4.3.	Vérification de la compatibilité 3D-1D avec Verify3D :	Erreur ! Signet non défini.
4.4.	Caractérisation structurale détaillée via PDBsum :	Erreur ! Signet non défini.
5.	Environnement Logiciel et Ressources Numériques :	Erreur ! Signet non défini.
5.1.	Outils de rendu et de visualisation moléculaire :	Erreur ! Signet non défini.
6.	Superposition Structurale et Étude Comparative de la Bromélaïne	Erreur ! Signet non défini.

7. Expertise In Silico de la Fiabilité du Modèle de Bromélaïne :	Erreur ! Signet non défini.
7.1. Diagnostic de qualité via la plateforme SAVES v6.0 :	Erreur ! Signet non défini.
7.1.1. Analyse de la distribution atomique (ERRAT2) :	Erreur ! Signet non défini.
7.1.2. Validation de l'environnement résiduel (Verify3D) :	Erreur ! Signet non défini.
7.2. Estimation du score énergétique global via le serveur QMEAN :	Erreur ! Signet non défini.
8.Méthodologie d'Analyse Bioinformatique :	Erreur ! Signet non défini.
9 Docking Moléculaire ;	Erreur ! Signet non défini.
9.1 Préparation des protéine cibles :	Erreur ! Signet non défini.
9.2 Modélisation de l'Interaction Intermoléculaire par Amarrage Protéine-Protéine (HADDOCK 2.4) :	Erreur ! Signet non défini.
9.2.1 Fondements et Pertinence du Modèle de Docking Dynamique :	Erreur ! Signet non défini.
9.2.2 Protocole de Simulation et Paramétrage Algorithmique	Erreur ! Signet non défini.
9.3 Raffinement Structural et Optimisation des Macromécules (UCSF Chimera)	Erreur ! Signet non défini.
9.3.1 Intégrité des structures initiales :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.2 Épuration moléculaire :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.3 Standardisation du profil d'hydrogénation :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.4 Réparation et modélisation des segments manquants :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.5 Optimisation de l'énergie libre :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.6 Paramétrage des charges atomiques :	Erreur ! Signet non défini.
9.3.7 Validation des structures finales :	Erreur ! Signet non défini.
9.4 Caractérisation in silico des interfaces d'interaction entre le récepteur CD28 et la bromélaïne	Erreur ! Signet non défini.
9.4.1 COACH (Consensus Approach for ligand binding site prediction) :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.2 TM-SITE :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.3 S-SITE :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.4 COFACTOR :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.5 FINDSITE :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.6 ConCavity :	Erreur ! Signet non défini.
9.4.7 SPPIDER (Site Prediction from Protein Intrinsic Disorder) :	Erreur ! Signet non défini.
10.Évaluation Terminale et Assurance Qualité des Modèles :	Erreur ! Signet non défini.
11. Étude du Docking Moléculaire entre la Bromélaïne et le Récepteur CD28 :	Erreur ! Signet non défini.
11.1. Paramétrage et Sélection du Complexe Optimal :	Erreur ! Signet non défini.

11.2. Caractérisation de l'Interface par PDBsum :	Erreur ! Signet non défini.
11.3. Estimation de l'Affinité de Liaison (PRODIGY) :	Erreur ! Signet non défini.
11.4. Analyse des Réseaux d'Interactions Protéiques (STRING) :	Erreur ! Signet non défini.
12. Calcul de l'Énergie Libre de Liaison par Méthode MM/GBSA :	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre III : Résultat Et interprétation	37
Chapitre IV : Discussion	39
Chapitre V : Conclusion et perspectives	44
Chapitre VI : Bibliographies	46

Introduction



Introduction

Le système immunitaire adaptatif, garant de la défense contre les agressions biologiques, repose sur une orchestration rigoureuse des lymphocytes T au sein de la synapse immunologique. Au centre de cette dynamique, le récepteur CD28 agit comme le commutateur principal de la réponse cellulaire en fournissant le « second signal » indispensable à la différenciation et à l'expansion clonale. L'interaction de CD28 avec ses ligands CD80/86 active des cascades de signalisation complexes, notamment les voies PI3K/Akt et NF- κ B, qui optimisent le métabolisme et la survie lymphocytaire via la production d'IL-2 (Burke et al., 2024; Roselli et al., 2021). Néanmoins, une persistance incontrôlée de ce signal peut rompre la tolérance immunitaire et favoriser l'émergence de pathologies auto-immunes (Burke et al., 2024).

Dans ce contexte, la bromélaïne, une cystéine protéase issue d'*Ananas comosus*, s'illustre par ses capacités immunomodulatrices et anti-inflammatoires. Si ses effets sur la balance des cytokines et les voies NF- κ B/MAPKs sont documentés, son mode d'action direct sur les récepteurs de costimulation, et particulièrement son affinité pour CD28, reste largement méconnu. La bromélaïne est reconnue pour moduler l'inflammation et influencer les réponses immunitaires, mais son interaction spécifique avec CD28 n'a pas encore été clairement établie dans la littérature actuelle (Zhao et al., 2020; Pulanco et al., 2023). L'hypothèse suggère que la bromélaïne pourrait entraver la formation du complexe CD28/B7, agissant ainsi comme un régulateur naturel de l'activation T, à l'image des petites molécules ou anticorps qui bloquent l'interaction CD28–CD80/86 (Sam et al., 2024; Roselli et al., 2021).

L'objectif est de caractériser par une approche *in silico* de docking protéine-protéine les interactions atomiques entre la bromélaïne et le domaine IgV de CD28. À travers des simulations d'amarrage et de dynamique moléculaire, il s'agit d'évaluer la stabilité du complexe et l'impact potentiel d'un blocage stérique ou allostérique sur la signalisation immunitaire, en s'appuyant sur des stratégies similaires appliquées à d'autres cibles protéiques (Zhao et al., 2020; Muller et al., 2020). L'enjeu final est de proposer un modèle moléculaire rigoureux positionnant la bromélaïne comme une alternative thérapeutique prometteuse pour les maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux ou la polyarthrite rhumatoïde, dans la lignée d'autres composés naturels immunomodulateurs. Cette recherche vise à répondre au besoin urgent de molécules capables de réguler la costimulation sans induire d'immunodéficience sévère, transformant ainsi l'usage des ressources naturelles en une stratégie innovante de médecine de précision.

Chapitre I : Revue de la littérature

1 Le Récepteur CD28 : Mécanismes d'Activation et Rôle dans l'Immunité Adaptative**1.1 Le récepteur CD28 : Un régulateur clé de la réponse immunitaire adaptative**

Le récepteur de costimulation CD28 est une glycoprotéine transmembranaire essentielle qui joue un rôle déterminant dans l'activation des lymphocytes T et le déclenchement de la réponse immunitaire adaptative. En tant que pivot central de la synapse immunologique, il coordonne la cascade de signalisation nécessaire à la production de cytokines clés, telles que l'IL-2 et l'IFN- γ , qui sont cruciales pour la prolifération lymphocytaire et une défense immunitaire efficace. Cependant, une activation excessive ou prolongée de la voie CD28 peut contribuer au développement de pathologies auto-immunes et de troubles inflammatoires chroniques. Le CD28 module également la dynamique des kinases Lck et ZAP70, abaissant le seuil d'activation du récepteur des cellules T pour renforcer la réponse immunitaire. De plus, des interactions cis entre CD28 et les ligands B7 sur les cellules T elles-mêmes favorisent la survie, la migration et la production de cytokines, renforçant ainsi la fonction des lymphocytes T CD8⁺ en périphérie. Ces mécanismes soulignent l'importance du CD28 dans l'équilibre entre activation immunitaire efficace et prévention des réponses pathologiques (Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024; Raychaudhuri et al., 2024; Zhao et al., 2023; Thomé et al., 2025; Roselli et al., 2021).

1.1.1 Structure et Fonction du CD28

Le récepteur CD28 est une glycoprotéine homodimérique membranaire appartenant à la superfamille des immunoglobulines, dont la structure est optimisée pour la costimulation des lymphocytes T. Ce récepteur se compose d'un domaine extracellulaire de type IgV, d'une région transmembranaire et d'une queue cytoplasmique riche en motifs de signalisation hautement conservés. Le domaine IgV est responsable de la liaison spécifique avec les ligands B7 (CD80/CD86), tandis que le domaine cytoplasmique contient des séquences prolines et des résidus tyrosines, notamment le motif YMNM, essentiels au recrutement de molécules telles que la PI3K et Grb2. La formation de cette plateforme de signalisation au niveau de la membrane plasmique entraîne l'activation de voies métaboliques et transcriptionnelles majeures, incluant les axes PI3K–AKT, MAPK, NF- κ B et NFAT. Ce processus est vital pour la maturation fonctionnelle des cellules T, régulant ainsi l'expansion clonale et la production de médiateurs effecteurs indispensables à l'orchestration de la réponse immunitaire adaptative. L'importance fonctionnelle du CD28 dans ces mécanismes explique son rôle central dans l'activation complète des lymphocytes T naïfs et

dans le maintien de l'homéostasie immunitaire (Figure 1) (Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024; Nakahata & Morishita, 2021; Cappell & Kochenderfer, 2021; Kalaitidou et al., 2023; Li et al., 2025; Roselli et al., 2021).

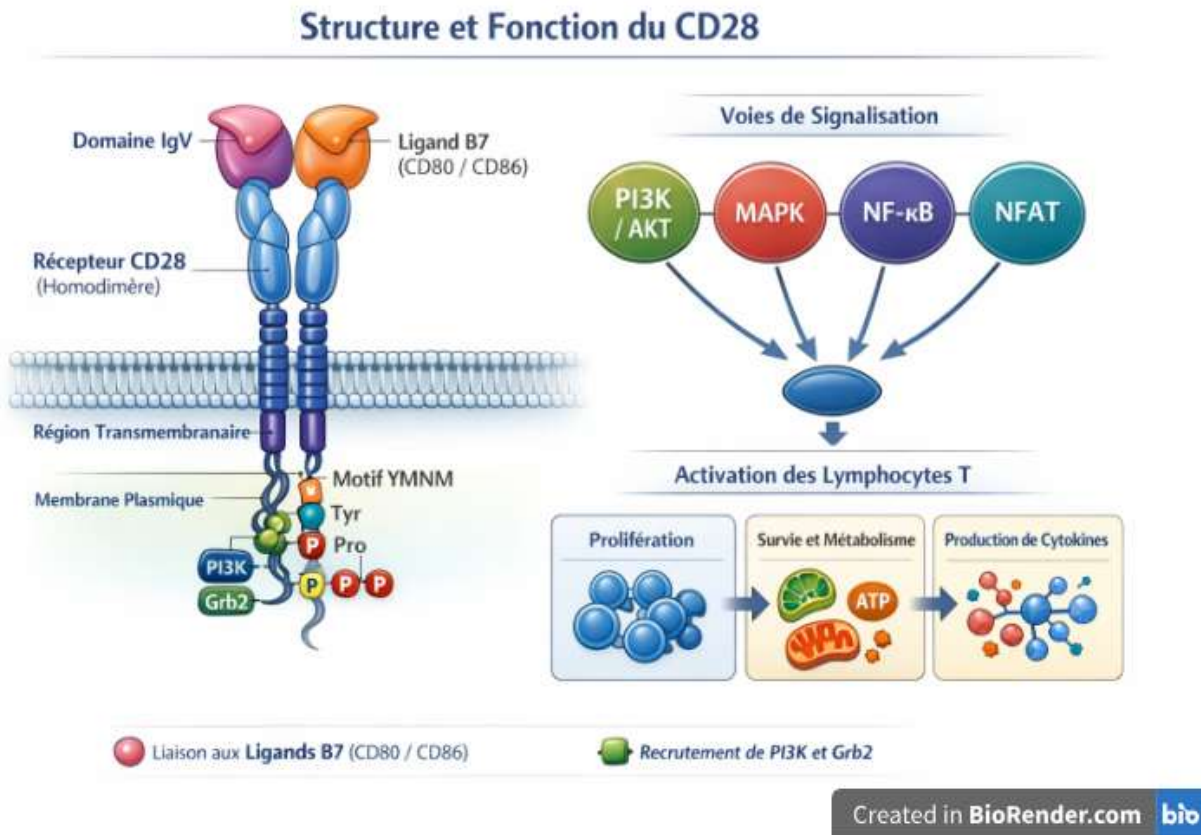


Figure 1 : La représentation schématique de la structure du récepteur CD28 et de la signalisation co-stimulatrice dans l'activation des lymphocytes T (Figure créée avec BioRender d'après Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024, Raychaudhuri et al., 2024; Zhao et al., 2023; Thomé et al., 2025; Roselli et al., 2021).

1.1.2 Rôle dans l'Immunité

L'activation du récepteur CD28 est un processus rigoureusement orchestré impliquant une succession d'événements moléculaires précis. Ce mécanisme peut être schématiquement divisé en deux étapes fondamentales : l'interaction initiale avec ses ligands B7, exprimés principalement par les cellules présentatrices d'antigènes, et la cascade de signalisation cytoplasmique subséquente qui active des voies intracellulaires clés. L'engagement de CD28 favorise le recrutement et

l'activation de kinases telles que Lck, ce qui accélère la phosphorylation de la chaîne TCR ζ et le recrutement de ZAP70 dans les microclusters TCR, abaissant ainsi le seuil d'activation des lymphocytes T (Raychaudhuri et al., 2024; Raychaudhuri et al., 2023). Par ailleurs, des interactions cis entre B7 et CD28 au niveau des invaginations membranaires renforcent la signalisation co-stimulatrice, favorisant la survie et la fonction des lymphocytes T CD8⁺ dans les tissus périphériques (Zhao et al., 2023). La signalisation CD28 active également la voie NF- κ B via l'adaptateur CARMIL2-CARD11, essentielle à la transcription des gènes impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire (Zhang et al., 2025). Enfin, le remodelage membranaire induit par SNX9 stabilise les clusters CD28 à la synapse immunologique, optimisant ainsi la phosphorylation de CD28 et la production d'IL-2, un facteur clé pour l'amplification de la réponse immunitaire (Ecker et al., 2022; Lotze et al., 2024).

1.2 Activation de CD28 : Mécanismes moléculaires et implications pathologiques :

La signalisation dépendante de CD28 est soumise à un contrôle rigoureux et repose sur une succession d'événements moléculaires coordonnés. Ce processus peut être scindé en deux étapes charnières : la phase de reconnaissance initiale (interaction avec le complexe TCR) et la phase de co-stimulation membranaire (Figure 2) (Esensten et al., 2016 ; Rudd et al., 2009).

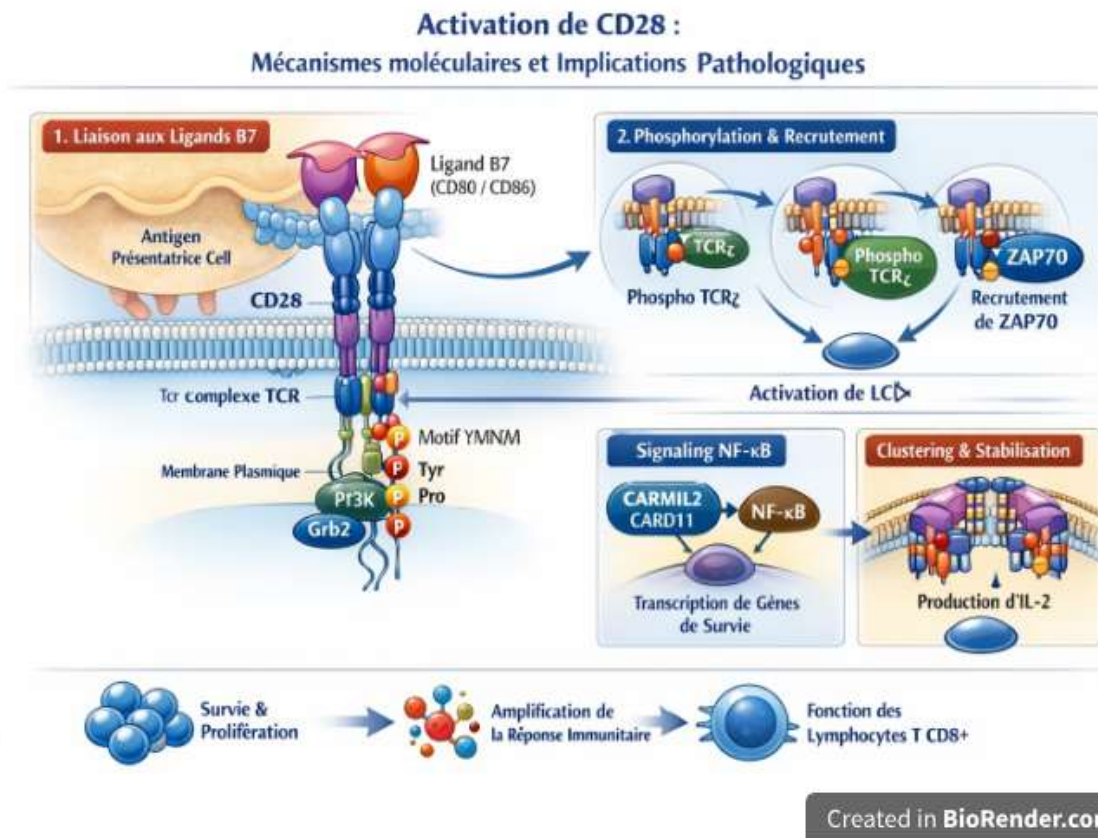


Figure 2: Le schéma des mécanismes moléculaires d'activation de CD28 et leurs implications dans la réponse immunitaire des lymphocytes T (Figure créée avec BioRender d'après Esensten et al., 2016 ; Rudd et al., 2009).

1.2.1 Activation initiale de CD28 : Sensibilisation au signal de costimulation

La phase d'engagement initial du récepteur CD28 se produit lorsque les signaux de reconnaissance antigénique et la maturation des cellules présentatrices d'antigènes créent un environnement propice à la costimulation. Bien que le CD28 soit exprimé de manière constitutive, son efficacité fonctionnelle nécessite une préparation moléculaire coordonnée avec le complexe TCR, assurant une activation optimale des lymphocytes T. Ce processus de sensibilisation est intimement lié à l'activation de la voie NF- κ B, qui régule la transcription des gènes essentiels à la survie et à la prolifération des lymphocytes T (Zhang et al., 2025; Burke et al., 2024). Des études

récentes montrent que l'engagement simultané du CD28 avec des ligands spécifiques dans le microenvironnement tumoral favorise la formation de complexes signalétiques stables, renforçant ainsi la réponse immunitaire adaptative (Moore et al., 2024; Zhao et al., 2023). Par ailleurs, des anticorps bispécifiques ciblant CD28 et des antigènes tumoraux ont démontré leur capacité à améliorer la costimulation locale et l'efficacité antitumorale en synergie avec le signal TCR (Kaur et al., 2025; Sam et al., 2024; Fontan et al., 2024). Ces mécanismes soulignent l'importance cruciale de l'intégration spatiale et temporelle des signaux CD28 et TCR pour orchestrer une réponse immunitaire robuste et contrôlée (Cappell & Kochenderfer, 2021; Korfi et al., 2025).

1.2.2 Activation de CD28 : Formation du complexe de signalisation lymphocytaire

L'activation effectrice du CD28 se manifeste suite à l'engagement du récepteur par des stimuli spécifiques tels que les ligands B7, exprimés lors d'états inflammatoires ou d'infections, des signaux de stress du microenvironnement cellulaire, ou encore des altérations du métabolisme énergétique lymphocytaire. Ces interactions induisent des remaniements conformationnels critiques au sein de la queue cytoplasmique du CD28, facilitant son association avec des protéines adaptatrices clés comme la PI3K et la protéine Grb2, ce qui module les cascades de signalisation en aval (Shao et al., 2025; Zhao et al., 2023). Une fois ce complexe stabilisé au niveau de la synapse immunologique, des voies métaboliques majeures sont activées, conduisant à une synthèse massive d'interleukine-2 (IL-2) et d'interféron-gamma (IFN- γ), ainsi qu'à la promotion de la prolifération et de la survie cellulaire, empêchant l'anergie ou la mort lymphocytaire (Nishikawa et al., 2025; Shao et al., 2025). La régulation fine de l'activité du CD28 repose sur diverses modifications post-traductionnelles essentielles telles que la phosphorylation des motifs tyrosines, l'ubiquitination et la déubiquitination sélective (Molon et al., 2022; Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024). Par exemple, les kinases JNK et p38 MAPK modulent la réponse du CD28 face aux contraintes du microenvironnement cellulaire, influençant directement la force et la durée du signal de costimulation nécessaire à l'orchestration efficace de la réponse immunitaire (Molon et al., 2022). De plus, le remodelage membranaire induit par des protéines comme SNX9 stabilise les clusters CD28 à la synapse immunologique, favorisant ainsi sa phosphorylation et la production d'IL-2 (Ecker et al., 2022). Ces mécanismes soulignent le rôle central de CD28 dans

l'amplification et la régulation dynamique des signaux TCR pour une activation optimale des lymphocytes T (Raychaudhuri et al., 2024; Raychaudhuri et al., 2023; Lotze et al., 2024).

1.2.3 Implications physiopathologiques du récepteur CD28

L'activation démesurée ou la signalisation inappropriée du récepteur CD28 est étroitement liée au développement de multiples affections inflammatoires chroniques et auto-immunes. Des dérégulations de l'expression de CD28 ou des polymorphismes génétiques, comme le variant rs2013278, favorisent une hyperréactivité lymphocytaire constitutive, menant à un état pro-inflammatoire permanent et à une perte de tolérance immunitaire (Hitomi et al., 2022; Brady & McGeachy, 2024). L'hyperactivation de la voie de costimulation CD28 est impliquée dans la pathogenèse de maladies telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, la sclérose en plaques et certains processus neuro-inflammatoires complexes (Brady & McGeachy, 2024; Hülskötter et al., 2023; Rioseras et al., 2021). Par ailleurs, les déséquilibres métaboliques systémiques observés dans l'obésité et le diabète de type 2 sont corrélés à une stimulation anormale de l'axe CD28, où un excès de lipides peut exacerber la signalisation costimulative des cellules T, maintenant une inflammation systémique chronique de bas grade (Sakamoto et al., 2023; Popugailo et al., 2023). Dans ces contextes pathologiques, une signalisation CD28 défaillante peut provoquer des lésions tissulaires irréversibles et accélérer l'évolution des maladies inflammatoires chroniques ; par exemple, dans l'athérosclérose, l'engagement accru du CD28 favorise la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires par les lymphocytes T infiltrants, stimulant le recrutement leucocytaire et contribuant à la formation et à l'instabilité des plaques d'athérome (Popugailo et al., 2023; Rioseras et al., 2021). Ces mécanismes soulignent le rôle central du récepteur CD28 dans la régulation immunitaire et son potentiel comme cible thérapeutique pour moduler les réponses inflammatoires chroniques (Ceeraz et al., 2021; Zhong et al., 2022).

1.2.4 Perspectives thérapeutiques

Le ciblage thérapeutique du récepteur de costimulation CD28 représente une stratégie prometteuse pour le développement de nouveaux traitements immunomodulateurs. Des antagonistes spécifiques de CD28 ou de ses interactions avec les ligands B7, tels que les protéines de fusion CTLA-4-Ig (abatacept, belatacept) et des anticorps monoclonaux bloquants, sont en

cours de perfectionnement pour contrôler des réponses immunitaires excessives dans l'auto-immunité et la transplantation (Upadhyay et al., 2025). Des agents comme l'abatacept, modulateur sélectif de la costimulation CD80/CD86–CD28, ont démontré un fort potentiel pour réduire les manifestations cliniques des maladies auto-immunes, notamment la polyarthrite rhumatoïde, en entravant l'activation pathologique des lymphocytes T (Lotze et al., 2024; Shi et al., 2025).

En résumé, le récepteur CD28 occupe une fonction primordiale dans l'orchestration de la réponse immunitaire adaptative, et sa dérégulation est étroitement liée au développement de nombreuses affections inflammatoires. L'élucidation de ses mécanismes moléculaires de signalisation et de leurs conséquences cliniques permet d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques dédiées à la modulation de cette voie, afin de traiter plus efficacement les maladies inflammatoires chroniques et auto-immunes (Lotze et al., 2024; Moore et al., 2024; Sam et al., 2024). Les développements récents incluent également des anticorps bispécifiques ciblant CD28 pour améliorer la stimulation T cellulaire dans le microenvironnement tumoral, ouvrant la voie à des immunothérapies innovantes (Moore et al., 2024; Kaur et al., 2025).

2 La Bromélaïne : Caractéristiques Biochimiques et Capacités de Régulation Immunitaire

2.1 La Bromélaïne de l'Ananas : Architecture Moléculaire et Profil Pharmacologique

Issue de la tige et du fruit de l'ananas (*Ananas comosus*), la bromélaïne représente un complexe d'enzymes protéolytiques dont les vertus biochimiques et pharmacologiques ont fait l'objet de nombreuses publications (Varilla et al., 2021 ; Hamzah et al., 2021 ; Gamarra et al., 2022) . En tant que système multi-enzymatique, elle se compose majoritairement de sérine protéases, mais intègre également d'autres types d'enzymes tels que des phosphatases, des peroxydases, des glucosidases ainsi que des ribonucléases (Varilla et al., 2021 ; Hamzah et al., 2021 ; Venetikidou et al., 2025).

2.1.1 Organisation Structurale et Éléments Constituants

Appartenant à la famille des subtilisines, la bromélaïne se définit comme une sérine protéase dont la fonction principale est de catalyser la décomposition des protéines. Son architecture moléculaire, composée de diverses sous-unités protéiques, forme un complexe enzymatique apte à rompre les liaisons peptidiques, ce qui lui confère une efficacité remarquable

dans l'hydrolyse des substrats protéiques (figure 3) (Chakraborty et al., 2021; Kaur, Huppertz, & Vasiljevic, 2024; Kansakar et al., 2024; Manzanilla-Valdez et al., 2025; Razali et al., 2022).

Bien que l'ananas fournisse cette enzyme à travers sa tige et son fruit, ces deux sources révèlent des variations subtiles en termes de concentration et de spécificité biochimique (Varilla, Marcone, Paiva, & Baptista, 2021). La bromélaïne de tige se distingue par une densité enzymatique plus élevée et une réactivité souvent plus intense envers les protéines cellulaires. À l'opposé, les extraits issus du fruit prédominent dans le secteur commercial, principalement en raison de leur plus grande disponibilité lors des processus de transformation (Mardawati et al., 2023).

Au-delà de ses propriétés protéolytiques, la bromélaïne constitue un réservoir de micronutriments essentiels, intégrant des minéraux tels que le potassium, le magnésium, le calcium et le zinc. La présence conjointe de vitamines, notamment la vitamine C, renforce son potentiel de modulation sur diverses fonctions physiologiques et biologiques (Hikisz & Bernasinska-Slomczewska, 2021; Costa, Sarmento-Ribeiro, & Gonçalves, 2023; Molenda & Kolmas, 2023; Berger et al., 2022; Passarelli et al., 2024)

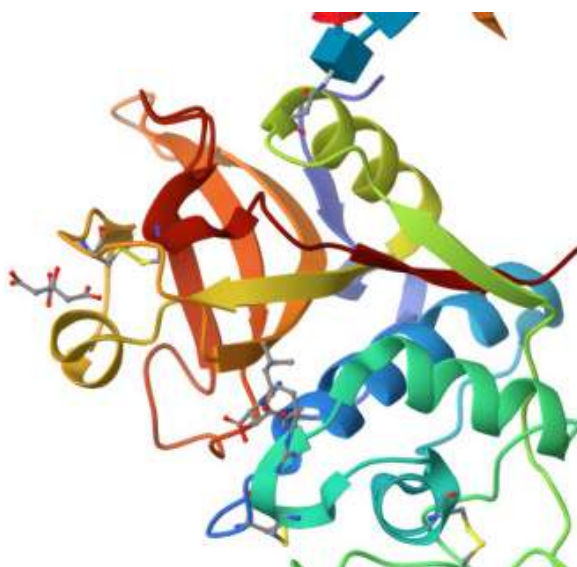


Figure 3 : la structure cristallographique de la bromélaïne de l'*Ananas comosus* en complexe avec l'inhibiteur E64 (PDB ID : 6YCF).

2.1.2 Attributs et Activités Pharmacodynamiques :

Les vertus pléiotropiques de la bromélaïne englobant ses capacités anti-inflammatoires, analgésiques, immunomodulatrices et antioxydantes ont motivé une vaste littérature scientifique (Chakraborty et al., 2021; Hikisz & Bernasińska-Słomczewska, 2021; Pezzani et al., 2023). La recherche contemporaine a mis en exergue son potentiel anti-inflammatoire, lequel repose sur l'entrave de la biosynthèse des prostaglandines ainsi que d'autres médiateurs de l'inflammation. Ce mécanisme d'action s'opère notamment via la modulation de la voie de signalisation NF- κ B, acteur central de la régulation de la réponse inflammatoire (Figure 4) (Insuan et al., 2021; Kansakar et al., 2024; Sethia et al., 2025).

Parallèlement, diverses études suggèrent que la bromélaïne joue un rôle déterminant dans la résorption des œdèmes et l'optimisation de la dynamique circulatoire. Ces propriétés positionnent ce complexe enzymatique comme une solution thérapeutique prometteuse pour le traitement des traumatismes ainsi que des pathologies inflammatoires, qu'elles soient de nature aiguë ou chronique (Hikisz & Bernasińska-Słomczewska, 2021; Locci et al., 2024; Varilla et al., 2021).

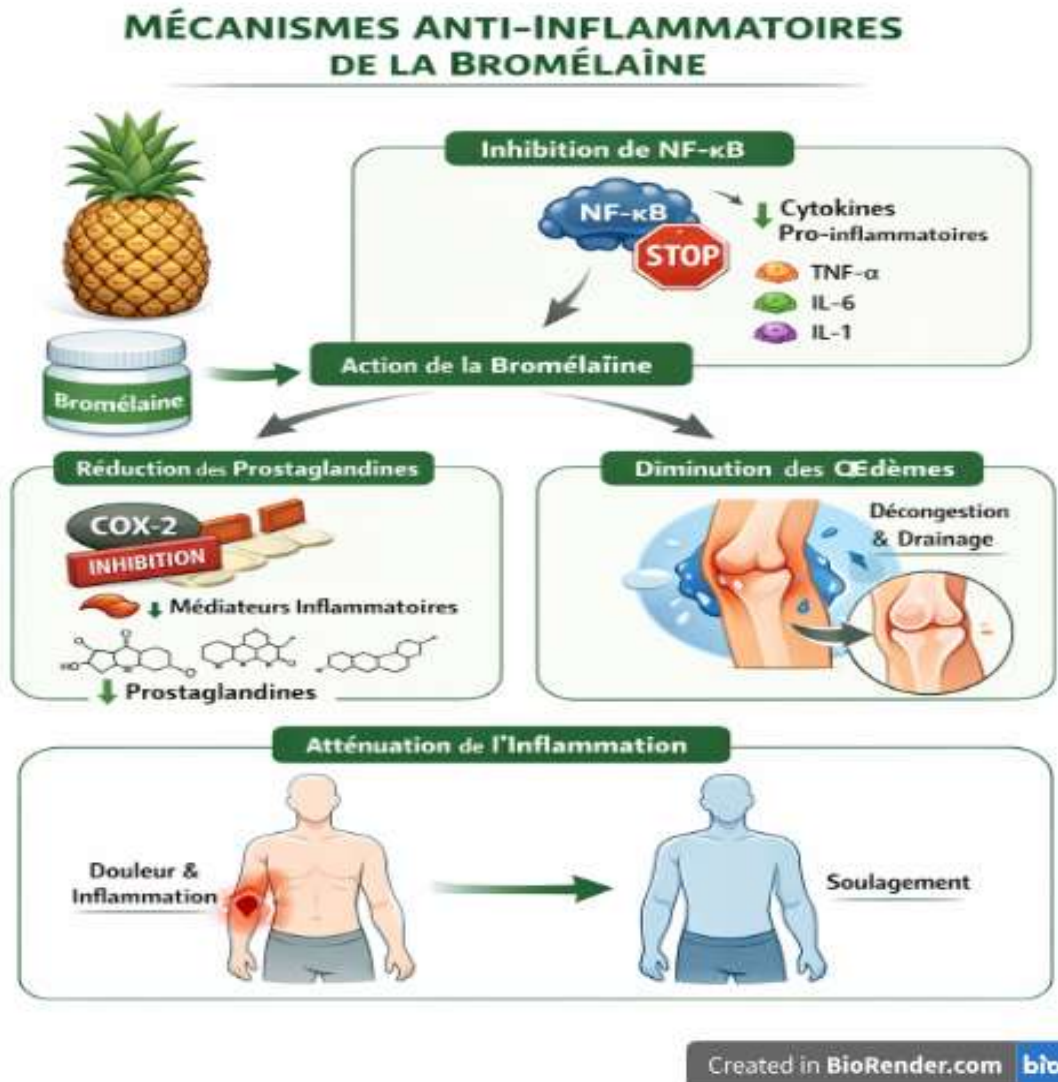


Figure 4 : Les mécanismes d'action pléiotropes de la bromélaïne dans la résolution de l'inflammation (Figure créée avec BioRender d'après Insuan et al., 2021 ; Kansakar et al., 2024 ; Hikisz & Bernasińska-Słomczewska, 2021; Locci et al., 2024; Varilla et al., 2021).

2.2 Potentiel Immunomodulateur de la Bromélaïne : Modes d'Action et Contrôle de la Réponse Inflammatoire

Le bromélaïne est reconnu non seulement pour ses effets anti-inflammatoires, mais aussi pour ses propriétés immunomodulatrices. Il modifie la réponse immunitaire en agissant sur plusieurs types cellulaires du système immunitaire, notamment les macrophages, les monocytes et les lymphocytes. Ces propriétés lui permettent de réguler la production de cytokines pro-inflammatoires et de moduler la réponse inflammatoire en fonction des besoins (Varilla et al., 2021; Pezzani et al., 2023; Ferreira et al., 2023).

2.2.1 Processus Physiopathologiques Induits par la Bromélaïne

2.2.1.1 Inhibition de la Synthèse des Cytokines Pro-inflammatoires

Des travaux scientifiques récents ont mis en exergue la capacité de la bromélaïne à restreindre la synthèse de médiateurs pro-inflammatoires majeurs, notamment le TNF- α , l'IL-1 β et l'IL-6. Ces cytokines se caractérisent par une expression exacerbée dans les contextes de pathologies auto-immunes ou d'inflammations chroniques (Bakare & Owoyele, 2021; Insuan et al., 2021; Varilla et al., 2021). Le mécanisme d'action de la bromélaïne repose sur une interaction avec les récepteurs et les cascades de signalisation intracellulaire, ciblant tout particulièrement la voie NF- κ B. En neutralisant cet axe de signalisation, l'enzyme prévient l'activation des cellules du système immunitaire et limite la libération de cytokines délétères qui entretiennent et aggravent le cycle inflammatoire (Insuan et al., 2021; Bakare & Owoyele, 2021; Pezzani et al., 2023).

2.2.1.2 Régulation Fonctionnelle des Lignées Monocytaires et Macrophagiques :

La bromélaïne exerce une influence déterminante sur les macrophages, médiateurs centraux de la cascade inflammatoire. Des travaux récents mettent en exergue sa capacité à orienter la polarisation de ces cellules vers un phénotype anti-inflammatoire (M2), au détriment de l'état pro-inflammatoire (M1). Ce basculement phénotypique s'avère crucial pour accélérer la résolution de l'inflammation et promouvoir la régénération des tissus (Koh et al., 2018; Luo et al., 2024). Par

ailleurs, ce complexe enzymatique assure une régulation des monocytes en atténuant leur état d'activation et en entravant leur recrutement vers les foyers inflammatoires, notamment par l'inhibition des voies NF- κ B et MAPK dans les macrophages stimulés (Nobre et al., 2024; Insuan et al., 2021). La réduction de la production de cytokines pro-inflammatoires telles que IL-6, TNF- α et NO contribue également à cette modulation immunitaire favorable (Nobre et al., 2024). Ces propriétés font de la bromélaïne un agent prometteur pour le contrôle des réponses inflammatoires et la promotion de la réparation tissulaire (Koh et al., 2018; Nobre et al., 2024).

2.2.1.3 Impact sur l'Homéostasie des Lymphocytes T et B :

L'action de la bromélaïne modifie les réponses immunitaires des lymphocytes T et B, favorisant notamment l'activation des lymphocytes T régulateurs (Tregs), essentiels pour maintenir l'homéostasie immunologique et prévenir les réactions inflammatoires excessives. Cette enzyme augmente la prolifération des lymphocytes T via la stimulation des cellules accessoires tout en inhibant la production d'IL-2, ce qui suggère un double effet modulateur sur les réponses T (Engwerda et al., 2001). In vivo, la bromélaïne améliore également la réponse anticorps dépendante des lymphocytes B tout en réduisant l'expression de cytokines pro-inflammatoires, contribuant ainsi à une réponse immunitaire équilibrée (Müller et al., 2013; Ferreira et al., 2023). Par ailleurs, elle diminue la production de cytokines pro-inflammatoires telles que IL-1 β , IL-6 et TNF- α , modulant ainsi l'inflammation par l'action sur les médiateurs cellulaires (Nobre et al., 2024). La bromélaïne agit aussi sur la sécrétion d'anticorps par les lymphocytes B, participant à une régulation fine de la réponse humorale (Ferreira et al., 2023). Ces propriétés immunomodulatrices font de la bromélaïne un agent prometteur pour le contrôle des réponses inflammatoires et le maintien d'une immunité harmonieuse (Figure 5) (Engwerda et al., 2001; Müller et al., 2013; Nobre et al., 2024; Ferreira et al., 2023).

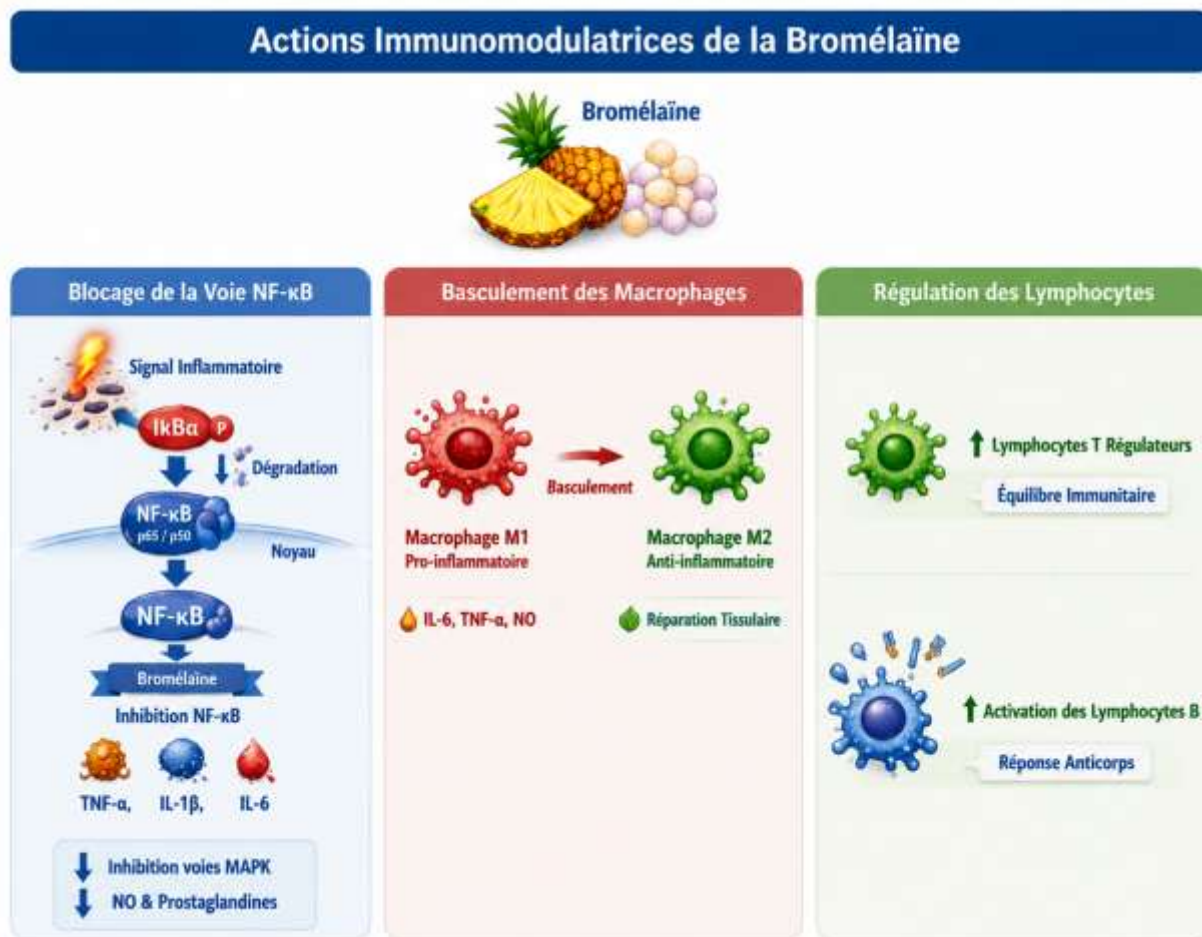


Figure 5: Les mécanismes d'immunomodulation de la bromélaïne sur les réponses innées et adaptatives (Figure créée avec BioRender d'après Engwerda et al., 2001 ; Nobre et al., 2024 ; Ferreira et al., 2023)

2.2.1.4 Modulation des Mécanismes de l'Autophagie Cellulaire :

La bromélaïne exerce également une influence sur la voie de l'autophagie, ce processus catabolique vital dédié au recyclage des constituants cellulaires et à la défense contre les agents pathogènes. En régulant cette activité autophagique, ce complexe enzymatique participe à la maîtrise de la cascade inflammatoire et prévient l'accumulation de débris ou de composés intracellulaires dont le dépôt excessif pourrait constituer un stimulus pro-inflammatoire (Figure 6) (Chen et al., 2023; Chen et al., 2023; Pezzani et al., 2023).

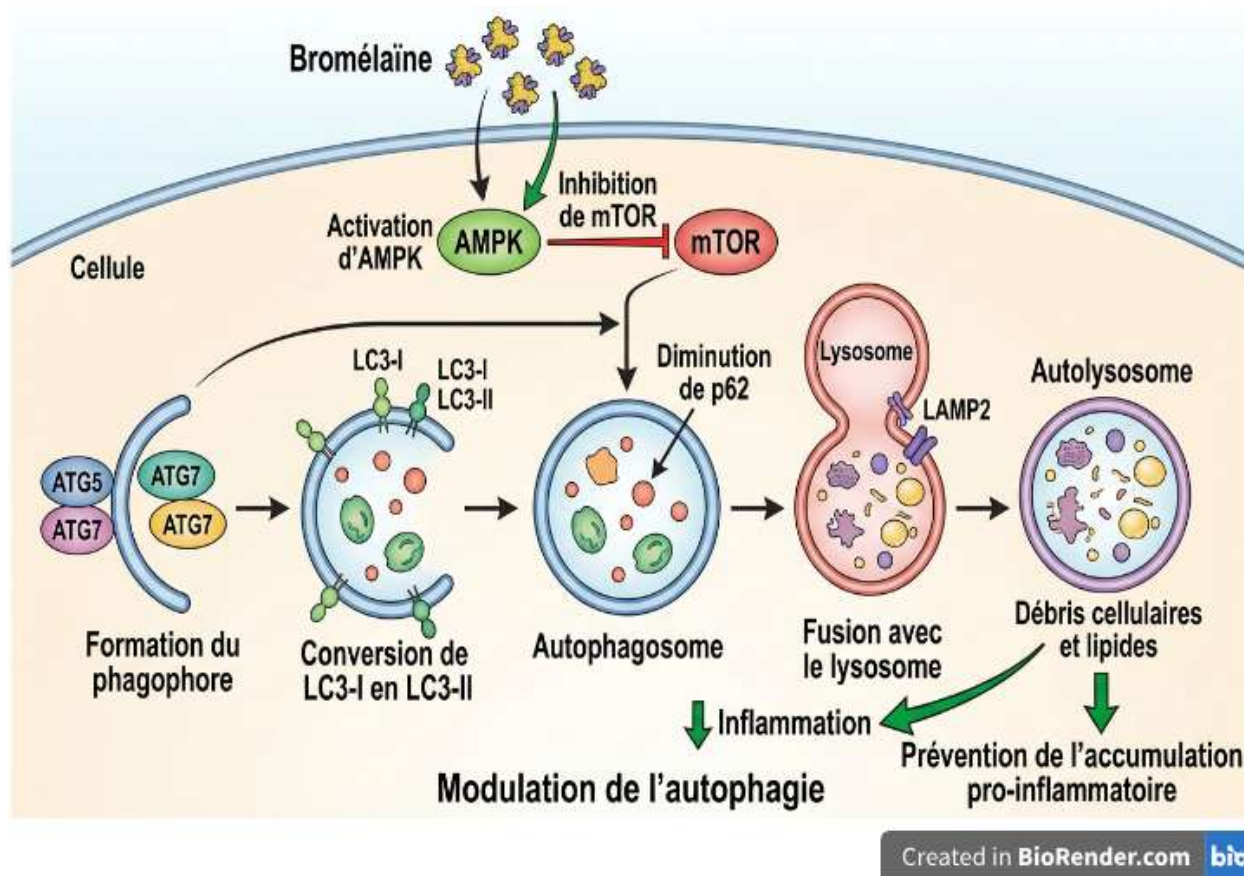


Figure 6 : Les mécanismes moléculaires de l'activité antitumorale de la bromélaïne impliquant la modulation des voies MAPK, Akt, NF- κ B et Cox-2 (Figure créée avec BioRender d'après Chen et al., 2023 ; Pezzani et al., 2023).

2.2.2 Usages Thérapeutiques et Évidences Cliniques Contemporaines :

Les propriétés de régulation immunitaire de la bromélaïne offrent des perspectives thérapeutiques considérables pour la prise en charge de diverses pathologies inflammatoires et auto-immunes. Son efficacité a notamment été explorée dans le contexte de la polyarthrite rhumatoïde, où son activité anti-inflammatoire pourrait favoriser une atténuation de la symptomatologie douloureuse ainsi qu'une restauration de la mobilité articulaire (Varilla et al., 2021; Narayanan, 2025). De plus, ce complexe enzymatique se présente comme un agent complémentaire de grand intérêt dans le domaine cardiovasculaire, grâce à son aptitude à limiter les processus inflammatoires au niveau de l'endothélium vasculaire (Sethia et al., 2025; Pezzani et al., 2023a; Rajan et al., 2022). Par ailleurs, l'impact de la bromélaïne sur la modulation des

cytokines et sur le complexe inflammasome NLRP3 suggère qu'elle pourrait constituer une piste thérapeutique pertinente pour les maladies neurodégénératives, à l'instar d'Alzheimer, où la réponse inflammatoire représente un moteur essentiel de la progression des lésions neurologiques (Narayanan, 2025; Salieva, 2025).

2.2.3 Résultats Cliniques Récents :

Des études cliniques récentes ont mis en exergue que la supplémentation en bromélaïne chez des patients présentant des pathologies inflammatoires chroniques engendre une diminution notable des biomarqueurs de l'inflammation, notamment de la protéine C-réactive (CRP), parallèlement à une atténuation des manifestations cliniques. En complément, des travaux parus en 2023 ont objectivé, au sein de modèles expérimentaux de colite, que l'usage de ce complexe enzymatique permet de réduire les lésions inflammatoires du côlon tout en restaurant l'efficacité de la fonction intestinale (Pereira et al., 2023; Varilla et al., 2021; Sethia et al., 2025).

3. Modélisation In Silico des Interactions Protéine-Protéine : Méthodes et Applications :

3.1 Principes du Docking Protéine-Protéine : Approches de Modélisation Moléculaire pour Étudier les Interactions Bromelain-CD28

L'analyse informatique des interactions entre protéines s'appuie sur des outils de simulation sophistiqués capables d'anticiper les dynamiques de reconnaissance à l'échelle atomique. Cette approche repose principalement sur le **docking moléculaire**, une technique essentielle pour caractériser l'affinité et la géométrie des liaisons interprotéiques, en modélisant l'organisation tridimensionnelle d'un complexe biologique à partir des structures isolées des entités (protéines ou ligands) (Ashizawa et al., 2025; Choi et al., 2023). Les méthodes traditionnelles de docking utilisent des algorithmes de recherche et de scoring, mais elles sont souvent limitées par la rigidité des structures et la simplification des fonctions de score, ce qui peut réduire leur précision (Lee et al., 2025; McNutt et al., 2021). Les avancées récentes intègrent l'apprentissage profond pour améliorer la flexibilité prise en compte dans les prédictions, permettant ainsi une meilleure modélisation des interactions dynamiques entre protéines et ligands (Lee et al., 2025; McNutt et

al., 2021). Par ailleurs, la combinaison du docking moléculaire avec les simulations de dynamique moléculaire permet d'explorer plus finement les mouvements conformationnels et d'affiner la prédiction des interfaces protéiques, offrant une alternative plus réaliste aux méthodes expérimentales classiques (Vidal-Limon et al., 2022; Borrego & Burgas, 2025). Enfin, l'utilisation de modèles prédictifs comme AlphaFold2 combinés à ces techniques améliore significativement la qualité des modèles complexes, bien que certains défis subsistent concernant la généralisation et le scoring précis des interactions (Ashizawa et al., 2025; Bryant et al., 2021; Borrego & Burgas, 2025).

3.1.1 Principes du Docking Protéine-Protéine :

L'amarrage moléculaire (ou docking) protéine-protéine constitue une méthodologie numérique visant à anticiper la configuration tridimensionnelle et la force d'association d'un complexe binaire. Ce processus prédictif s'articule autour de quatre phases fondamentales (Figure 7) :

Traitement préliminaire des données structurales : La validité du docking dépend initialement de la qualité des coordonnées atomiques des partenaires. Ces informations sont soit extraites de répertoires expérimentaux tels que la Protein Data Bank (PDB), soit générées par des techniques de modélisation comparative afin de pallier l'absence de structures cristallographiques.

Exploration de l'espace conformationnel : Cette étape consiste à simuler une multitude de positionnements relatifs pour identifier l'agencement maximisant la complémentarité des interfaces. Les algorithmes oscillent entre une approche rigide, où les géométries restent fixes, et une approche flexible, qui autorise des réajustements structuraux pour mieux refléter la dynamique moléculaire réelle.

Notation et analyse de l'affinité : Les complexes candidats sont ensuite hiérarchisés par des fonctions de score. Celles-ci évaluent la stabilité thermodynamique du système en calculant des paramètres tels que l'énergie libre de liaison, l'étendue de la surface de contact et les potentiels d'interaction.

Optimisation et consolidation des modèles : Enfin, les solutions les plus probables subissent un raffinement final pour accroître la précision du modèle. Cette phase d'ajustement intègre des variables biophysiques complexes, notamment l'optimisation géométrique des chaînes latérales, ainsi que les influences du solvant et des forces électrostatiques.

Les avancées récentes intègrent notamment l'utilisation d'AlphaFold2 combinée à des raffinements par dynamique moléculaire, qui améliorent la qualité des prédictions malgré certaines limites persistantes dans les fonctions de score actuelles. De plus, les méthodes hybrides fusionnant approches basées sur modèles templates et ab initio permettent d'augmenter la précision tout en réduisant le coût computationnel (Borrego & Burgas, 2025; Meng et al., 2023; Jandova et al., 2021; Vidal-Limon et al., 2022).

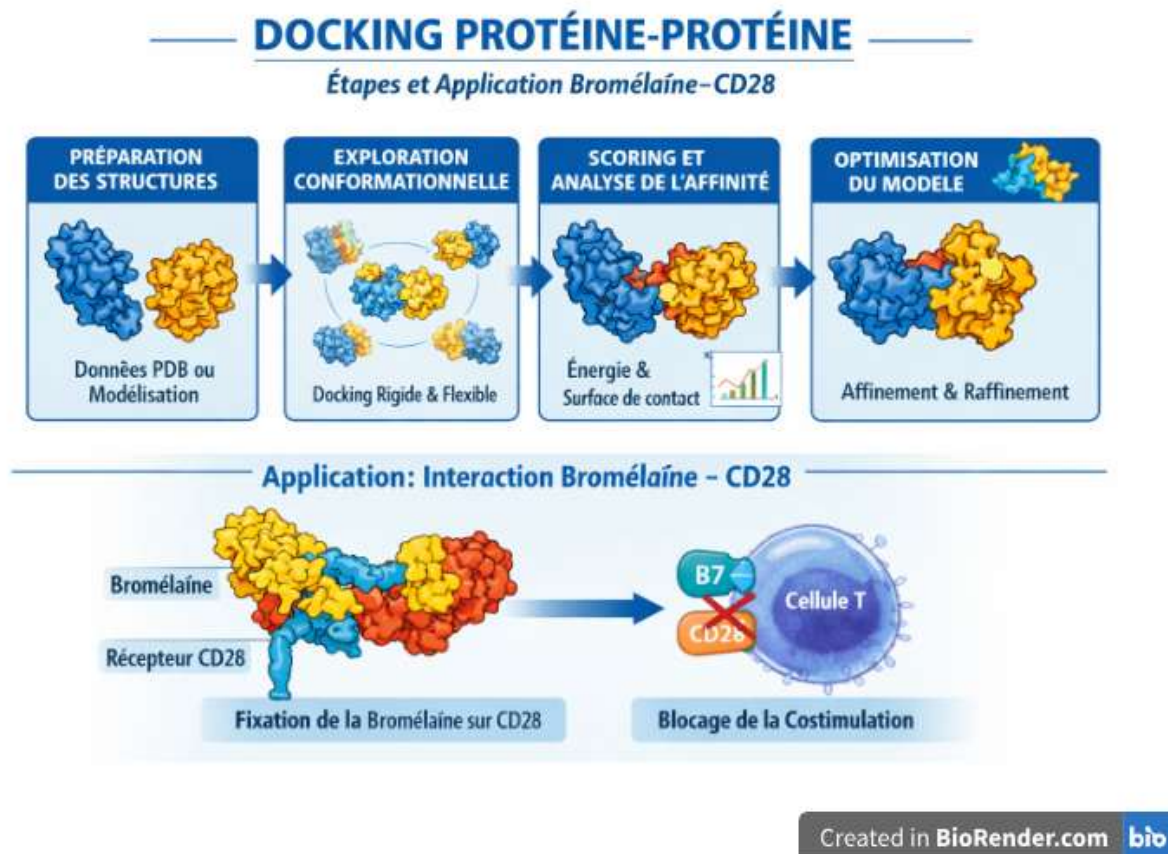


Figure 7 : Les quatre phases fondamentales d'amarrage moléculaire protéine-protéine (Figure créée avec BioRender d'après Borrego & Burgas, 2025 ; Meng et al., 2023).

3.1.2 Application du Docking à l'Étude des Interactions Bromelaïne-CD28 :

L'amarrage moléculaire (docking) protéine-protéine a été utilisé pour analyser les affinités entre la bromélaïne et le récepteur CD28, afin de comprendre comment cette enzyme module la synapse immunologique. Des algorithmes de simulation comme HADDOCK ou ZDOCK ont permis d'identifier les sites préférentiels d'interaction de la bromélaïne sur le domaine extracellulaire IgV de CD28, une région clé pour la liaison des ligands B7 (CD80/86). Ces modélisations suggèrent que la bromélaïne interfère avec des résidus critiques, perturbant ainsi la formation du complexe de signalisation nécessaire à la costimulation des lymphocytes T. Cette perturbation pourrait expliquer les effets immunosuppresseurs et anti-inflammatoires observés expérimentalement lors de l'action de la bromélaïne. L'identification des acides aminés clés à l'interface offre des pistes pour développer des stratégies thérapeutiques ciblées visant à réguler l'activation des lymphocytes T via CD28. Ces mécanismes s'inscrivent dans le cadre plus large des voies de costimulation et régulation immunitaire impliquant CD28, qui sont essentielles pour l'équilibre entre activation et tolérance immunitaire (Burke et al., 2024; Cappell & Kochenderfer, 2021).

3.2 Apports du docking moléculaire à l'analyse structurale des interactions immunitaires :

La modélisation numérique, notamment l'amarrage moléculaire protéine-protéine, constitue aujourd'hui un pilier de la recherche sur les interactions immunitaires. Appliquée au récepteur CD28, cette approche permet de décrypter les mécanismes biochimiques essentiels à la costimulation des lymphocytes T. En simulant l'affinité entre CD28 et divers ligands ou agents bioactifs, le docking offre une compréhension précise des interfaces de contact à l'échelle atomique. Ces prédictions structurales facilitent la conception de stratégies immunomodulatrices innovantes pour traiter les dérèglements inflammatoires. Ainsi, les avancées récentes du docking *in silico* fournissent des bases solides pour optimiser le ciblage de CD28 dans les thérapies de précision, notamment en développant des inhibiteurs moléculaires ou des anticorps bispécifiques qui moduleraient finement l'activation des lymphocytes T (Upadhyay et al., 2025). Ces approches s'inscrivent dans un contexte plus large où la modulation ciblée de CD28 est explorée pour

améliorer l'efficacité des immunothérapies contre le cancer et les maladies auto-immunes (Lotze et al., 2024; Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024).

3.2.1 Caractérisation moléculaire des interactions entre les complexes immunitaires et les agents modulateurs :

Les récepteurs de costimulation, dont le CD28 est un élément central, sont des glycoprotéines membranaires essentielles à la détection des signaux d'activation et à la régulation fine de la réponse immunitaire adaptative. L'amarrage moléculaire *in silico* permet de modéliser les interactions entre CD28 et ses partenaires moléculaires au sein de la synapse immunologique, offrant une vision atomique des interfaces de liaison. Des études récentes ont montré que des molécules bioactives ou peptides régulateurs peuvent se fixer sur CD28 pour moduler l'activation lymphocytaire, contribuant ainsi à limiter les pathologies inflammatoires chroniques. L'utilisation du docking pour caractériser l'affinité entre la bromélaïne et le domaine extracellulaire de CD28 révèle comment cette enzyme pourrait entraver la formation du complexe de costimulation, bloquant la cascade pro-inflammatoire. Ces analyses structurales ouvrent des perspectives thérapeutiques innovantes pour traiter des maladies auto-immunes et inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde ou certaines affections neurodégénératives où la costimulation joue un rôle clé. Ces mécanismes s'inscrivent dans le cadre plus large du rôle fondamental de CD28 dans l'activation et la modulation des lymphocytes T, impliquant notamment le recrutement de kinases comme Lck et ZAP70 qui amplifient le signal d'activation cellulaire (Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024; Raychaudhuri et al., 2024; Nakahata & Morishita, 2021; Moore et al., 2024).

3.2.2 Conception et optimisation de stratégies immunomodulatrices de précision

La simulation numérique facilite la conception de modulateurs immunitaires ciblés en modélisant les affinités entre les récepteurs de défense et divers agents biologiques. Des outils d'amarrage moléculaire ont ainsi été exploités pour identifier des composés capables de s'unir sélectivement au récepteur de costimulation CD28, permettant de réguler l'activation lymphocytaire sans déclencher de cascades inflammatoires systémiques. L'application du docking au domaine extracellulaire de CD28 permet de repérer des molécules obstruant ses sites de liaison critiques, prévenant ainsi une hyper-réactivité immunitaire pathologique. Ces recherches

favorisent l'émergence de traitements innovants pour des pathologies auto-immunes telles que le lupus, la polyarthrite rhumatoïde ou la sclérose en plaques. Le rôle clé du récepteur CD28 dans la costimulation des lymphocytes T est bien établi, notamment par son interaction avec les ligands CD80/86 qui amplifient la réponse immunitaire adaptative. Par ailleurs, la modulation ciblée de CD28 améliore l'efficacité des immunothérapies, comme le montrent les développements récents d'anticorps bispécifiques et de récepteurs chimériques incorporant des domaines costimulateurs CD28 (Xing et al., 2021; Ciesielska-Figlon & Lisowska, 2024; Moore et al., 2024; Cappell & Kochenderfer, 2021; Kalaitidou et al., 2023).

3.2.3 Ingénierie des stratégies vaccinales et des approches d'immunothérapie cellulaire

L'amarrage moléculaire virtuel est aujourd'hui indispensable à la conception de stratégies vaccinales modernes, permettant de simuler avec précision les interactions entre agents thérapeutiques et récepteurs immunitaires. Cette technique optimise l'action des adjuvants en prédisant l'affinité de composés bioactifs, tels que la bromélaïne, pour le récepteur de costimulation CD28, un commutateur central modulant la synapse immunologique. En renforçant cette synapse, il est possible de déclencher une réponse adaptative plus vigoureuse lors de la présentation antigénique, ce qui guide le développement de vaccins plus performants et ciblés. Les adjuvants jouent un rôle clé en stimulant l'immunité innée et adaptative via divers mécanismes, notamment en activant les cellules dendritiques et en modulant la présentation croisée des antigènes pour renforcer les réponses T cytotoxiques (Lavelle & McEntee, 2024; Lee & Suresh, 2022; Turley & Lavelle, 2022; Huete-Carrasco et al., 2023). Par ailleurs, les avancées dans la modélisation par docking assistée par apprentissage automatique permettent d'accélérer la découverte de molécules thérapeutiques avec une meilleure affinité pour leurs cibles (Choi & Lee, 2021). Ces approches intégrées favorisent ainsi la conception rationnelle de vaccins innovants capables d'induire une immunité robuste et durable.

4. Enjeux en Immuno-intervention et Vaccinologie : Émergence de Nouvelles Stratégies de Modulation

4.1. Apports Théoriques et Pratiques du Criblage In Silico des Interactions Bromélaïne-CD28

L'exploration bio-informatique des interactions moléculaires entre la bromélaïne et le récepteur CD28 révèle un potentiel important pour moduler l'activation des lymphocytes T. Bromélaïne agit en protéolysant des récepteurs clés impliqués dans la signalisation immunitaire, ce qui peut influencer la co-stimulation via CD28 et ainsi réguler la réponse immunitaire (Engwerda, Andrew, Ladhams, & Mynott, 2001; Fitzhugh, Shan, Dewhirst, & Hale, 2008). Ces mécanismes sont soutenus par des analyses in silico qui aident à comprendre comment bromélaïne pourrait cibler spécifiquement les interactions protéiques du récepteur CD28 pour moduler l'immunité adaptative (Mekni, Ben Abdallah Kolsi, & Gargouri-Bouzid, 2019).

4.1.1 Simulation des Affinités Moléculaires pour le Ciblage des Pathologies Inflammatoires :

Les analyses de bio-informatique structurale, via le docking protéine-protéine, ont révélé les domaines d'interaction spécifiques entre la bromélaïne et le récepteur CD28. Cette liaison entraverait la co-stimulation excessive des lymphocytes T, limitant la cascade inflammatoire et la sécrétion de médiateurs délétères. Une telle modulation offre des perspectives thérapeutiques pour traiter des pathologies caractérisées par une dérégulation immunitaire, telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'athérosclérose ou certains processus neurodégénératifs, notamment la maladie d'Alzheimer (Burke, Chaudhri, Freeman, & Sharpe, 2024). Par ailleurs, le repérage des résidus d'acides aminés de CD28 impliqués dans ce complexe moléculaire permettrait de concevoir des agents cliniques hautement sélectifs. L'objectif central est de perturber la signalisation pathologique de ce récepteur tout en préservant l'intégrité des fonctions physiologiques essentielles (Cappell & Kochenderfer, 2021). En fin, ces travaux computationnels ouvrent la voie à une médecine moléculaire de précision, capable d'ajuster la réponse immunitaire de façon sécurisée et optimale (Liu et al., 2021).

4.1.2 Conception de Protocoles de Régulation Immunitaire de Précision :

L'exploration bio-informatique des liaisons entre la bromélaïne et le récepteur CD28 apporte une contribution majeure à l'élaboration de protocoles d'immunomodulation spécifiques. En modélisant l'influence de diverses molécules sur ce complexe, les scientifiques parviennent à isoler des variantes structurales optimisant les propriétés anti-inflammatoires tout en limitant les risques de toxicité collatérale. Ces données favorisent l'émergence de thérapies novatrices contre les pathologies auto-immunes, inflammatoires ou oncologiques, domaines cruciaux où le contrôle précis de CD28 s'avère une priorité stratégique fondamentale pour assurer l'efficacité clinique totale de ces nouveaux traitements futurs (Burke, Chaudhri, Freeman, & Sharpe, 2024; Cappell & Kochenderfer, 2021). La compréhension fine des interactions protéine-protéine dans la famille B7:CD28 permet d'identifier des cibles thérapeutiques pour moduler la co-stimulation T cellulaire sans compromettre la tolérance immunitaire (Burke et al., 2024). Par ailleurs, les approches computationnelles facilitent la conception d'agents sélectifs capables d'ajuster la réponse immunitaire avec précision et sécurité (Liu et al., 2021).

4.1.3. Optimisation de l'Utilisation du Bromélaïne en Immunothérapie :

L'approche *in silico* facilite l'optimisation de la bromélaïne intégrée aux thérapies combinées. La modélisation moléculaire permet notamment d'anticiper ses interactions avec divers agents biologiques, tels que les anticorps monoclonaux ou les inhibiteurs de la caspase-1, visant une synergie anti-inflammatoire optimale. Une maîtrise accrue des processus biochimiques régissant ces associations complexes permet d'orienter les choix cliniques vers des stratégies plus précises et performantes, renforçant ainsi l'efficacité thérapeutique globale des traitements actuellement administrés aux patients (Khoury et al., 2023; Rodríguez-Fernández et al., 2022). Les mécanismes de résistance aux anticorps monoclonaux, notamment dans le contexte des maladies inflammatoires et oncologiques, soulignent l'importance d'associer des agents comme la bromélaïne pour potentialiser l'effet thérapeutique tout en limitant les effets secondaires (Khoury et al., 2023). Par ailleurs, la modélisation pharmacocinétique et pharmacodynamique des anticorps monoclonaux en contexte inflammatoire permet d'optimiser leur dosage et leur association avec d'autres molécules bioactives pour maximiser l'efficacité tout en minimisant les effets indésirables (Rodríguez-Fernández et al., 2022).

4.2. Perspectives Cliniques : Bromélaïne Comme Adjuvant dans les Thérapies et la Conception de Vaccins :

L'intérêt marqué pour la bromélaïne en immunothérapie et vaccinologie repose sur ses vertus immunomodulatrices et anti-inflammatoires. Ses caractéristiques singulières permettent d'envisager son usage novateur en tant que traitement complémentaire ou comme un adjuvant immunologique puissant lors du développement de vaccins, offrant ainsi des perspectives cliniques inédites (Varilla et al., 2021; Pezzani et al., 2023; Insuan et al., 2021). La capacité de la bromélaïne à moduler les voies inflammatoires telles que NF- κ B et MAPK renforce son potentiel dans la régulation des réponses immunitaires (Insuan et al., 2021). De plus, sa bonne biodisponibilité et son profil de sécurité favorisent son intégration dans des stratégies thérapeutiques innovantes (Bottega et al., 2021).

4.2.1. Bromélaïne comme Adjuvant Immunitaire dans des Thérapies Innovantes :

Un adjuvant immunologique se définit comme un agent capable d'amplifier la vigueur d'une réaction immunitaire face à un antigène spécifique donné (Danielsson & Eriksson, 2021). Par sa faculté à réguler la dynamique des macrophages et des lymphocytes, la bromélaïne pourrait optimiser les défenses biologiques dans divers cadres cliniques (Yu et al., 2024). Des travaux récents indiquent que son usage stimulerait vigoureusement les cellules dendritiques et les lymphocytes T, favorisant ainsi une présentation antigénique accrue et une intensification de la réactivité immunitaire globale (Huang et al., 2025). Les adjuvants saponines, par exemple, induisent une activation puissante des cellules dendritiques CD11b⁺ et des macrophages, améliorant la présentation croisée de l'antigène et l'activation des lymphocytes T CD8⁺ (Huis in 't Veld et al., 2025). De plus, certains nanoadjuvants encapsulant la bromélaïne favorisent la maturation des cellules dendritiques et l'infiltration des lymphocytes T cytotoxiques dans le microenvironnement tumoral (Yu et al., 2024). Ces mécanismes combinés suggèrent que la bromélaïne pourrait agir comme un adjuvant immunologique efficace en modulant plusieurs populations cellulaires clés du système immunitaire (Yu et al., 2024; Huang et al., 2025; Veld et al., 2025).

4.2.1.1 Applications en Oncologie Thérapeutique :

L'usage de la bromélaïne comme adjuvant immunologique en oncologie représente une perspective majeure. Elle pourrait accroître la performance des immunothérapies, tels les inhibiteurs de points de contrôle, en intensifiant la réaction immunitaire contre les tumeurs. En atténuant parallèlement l'inflammation au sein du microenvironnement tumoral, cette enzyme permettrait de réorienter les défenses de l'organisme vers une élimination plus ciblée et efficace des cellules malignes présentes au cœur des tissus cancéreux (Khosravi et al., 2024; Kim & Cho, 2022). La modulation du microenvironnement tumoral est essentielle pour surmonter la résistance aux immunothérapies actuelles et améliorer leur efficacité (Tang et al., 2021). De plus, la bromélaïne pourrait contribuer à transformer les tumeurs « froides » en tumeurs « chaudes », favorisant ainsi une meilleure infiltration des lymphocytes T cytotoxiques (Khosravi et al., 2024). Ces mécanismes combinés suggèrent un rôle prometteur de la bromélaïne dans l'optimisation des traitements anticancéreux basés sur l'immunothérapie (Khosravi et al., 2024; Kim & Cho, 2022; Tang et al., 2021).

4.2.1.2 Prise en Charge des Maladies Auto-immunes :

Concernant les pathologies auto-immunitaires caractérisées par une inflammation persistante, à l'instar de la polyarthrite rhumatoïde, la bromélaïne s'envisage comme un adjuvant thérapeutique capable de mieux réguler l'immunité. En freinant la synthèse des cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α et l'IL-17, et en stabilisant les lymphocytes T régulateurs, cette enzyme permettrait d'atténuer les crises aiguës tout en optimisant le contrôle pérenne de ces diverses affections chroniques (Narayanan, 2025; Moudgil & Venkatesha, 2022). Les enzymes protéolytiques comme la bromélaïne modulent les voies inflammatoires et favorisent la réparation tissulaire, réduisant ainsi l'inflammation synoviale (Han et al., 2025). Ces effets contribuent à restaurer l'équilibre immunitaire dans la polyarthrite rhumatoïde. Par ailleurs, des études récentes soulignent le potentiel des produits naturels pour moduler efficacement les réponses immunitaires sans effets secondaires majeurs (Moudgil & Venkatesha, 2022). Ainsi, la bromélaïne représente une option prometteuse pour compléter les traitements conventionnels dans les maladies auto-immunes (Narayanan, 2025; Moudgil & Venkatesha, 2022; Han et al., 2025).

4.2.2 Rôle de la Bromélaïne dans l'Élaboration de Systèmes Vaccinaux Inédits

Éléments cruciaux de la prophylaxie, les vaccins pourraient bénéficier d'adjuvants comme la bromélaïne pour intensifier la réponse immunologique. Son apport s'avère prometteur pour optimiser l'efficacité des vaccins sous-unitaires, basés sur des protéines recombinantes ou des antigènes purifiés, en stimulant une protection biologique plus robuste chez les patients (Zhao et al., 2023; Pulendran, Arunachalam & O'hagan, 2021). Les adjuvants agissent en activant les cellules présentatrices d'antigènes via des récepteurs de reconnaissance de motifs, renforçant ainsi la réponse adaptative (Facciola et al., 2022). De plus, les avancées en nanotechnologie et biologie moléculaire permettent d'améliorer la présentation antigénique et la durée de l'immunité induite (Cui et al., 2024). Ces propriétés font de la bromélaïne un candidat intéressant pour renforcer l'immunogénicité des vaccins modernes (Goetz et al., 2024)..

4.2.2.1 Optimisation de la Réactivité Immunitaire Post-vaccinale :

La médiation cellulaire immunitaire s'avère fondamentale pour l'efficacité d'une vaccination (Lee & Suresh, 2022). La bromélaïne stimulerait les cellules dendritiques et la présentation antigénique via les récepteurs Toll-like (TLR), intensifiant ainsi le recrutement des lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ (Wicherska-Pawłowska, Wróbel & Rybka, 2021; Miyasaka et al., 2025). En ajustant finement les processus inflammatoires, elle favoriserait la mémoire immunitaire, optimisant la puissance de la réponse vaccinale (Hernández-Aceves et al., 2025).

4.2.2.2 Renforcement de la Réponse Induite par les Vaccins Anticancéreux

Pour les immunothérapies vaccinales oncologiques visant à déclencher une réaction ciblée contre les tumeurs, l'apport de la bromélaïne permettrait d'activer les lymphocytes T cytotoxiques tout en intensifiant la réponse face aux déterminants antigéniques malins. En tant qu'adjuvant, ce complexe enzymatique optimiserait ainsi l'identification précise et l'éradication des cellules cancéreuses par le système immunitaire au sein des protocoles thérapeutiques actuels (Shah et al., 2025; Wells et al., 2024). Les nanoparticules immunomodulatrices favorisent l'activation des lymphocytes T cytotoxiques, améliorant la présentation antigénique et contrecarrant

l'environnement tumoral immunosuppresseur (Li et al., 2021). L'association de ces adjuvants enzymatiques avec des vaccins peptidiques ciblant les néoantigènes tumoraux pourrait renforcer la mémoire immunitaire et la réponse effectrice contre les tumeurs (Koerner et al., 2021; Dusi, Bronte & De Sanctis, 2025).

4.3 Évaluation de l'Innocuité et des Performances Cliniques de la Bromélaïne :

Malgré les perspectives encourageantes révélées par les études précliniques et computationnelles sur la bromélaïne, des essais cliniques rigoureux demeurent indispensables pour attester de son innocuité, de sa toxicité et de son efficacité immunologique. L'inclusion de cette enzyme dans des protocoles de soins ou de vaccination requiert une évaluation exhaustive de ses conséquences immunitaires à long terme ainsi que de ses interactions potentielles avec les divers traitements médicaux existants aujourd'hui même (Shoham et al., 2023; Kumar et al., 2023). Les données actuelles suggèrent que la bromélaïne est généralement bien tolérée, sans effets indésirables graves signalés dans les études cliniques, mais des investigations supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats sur des populations plus larges et diversifiées (Suryawanshi et al., 2025). Par ailleurs, l'amélioration des formulations pharmaceutiques pourrait optimiser sa biodisponibilité tout en minimisant les risques potentiels (Varilla et al., 2021).

5 États des lieux et perspectives de la recherche en immunologie : analyse des limites et des défis contemporains

5.1 Identification des verrous scientifiques et des zones d'ombre :

Bien que les investigations contemporaines portant sur la cascade de signalisation de **CD28** aient apporté des éclairages fondamentaux sur les mécanismes régulant la co-stimulation des lymphocytes T, plusieurs dimensions de ce réseau complexe demeurent insuffisamment documentées. Ces zones d'ombre constituent autant d'opportunités pour réaliser des percées majeures dans la compréhension des dialogues moléculaires intracellulaires et le développement de nouvelles approches thérapeutiques, notamment en immunothérapie

5.1.1 Régulation post-traductionnelle de CD28 et impact de la bromélaïne : enjeux moléculaires et perspectives thérapeutiques

L'investigation des mécanismes de régulation post-traductionnelle du récepteur CD28 demeure encore parcellaire au sein de la littérature scientifique actuelle. Bien que des processus tels que la phosphorylation, l'ubiquitination ou la glycosylation soient reconnus comme des leviers déterminants dans la modulation du signal de co-stimulation des lymphocytes T, leur interaction spécifique avec des composés exogènes comme la bromélaïne n'a pas encore fait l'objet d'études approfondies. Les modifications post-traductionnelles (PTM) jouent un rôle crucial dans la régulation des fonctions protéiques et la transduction du signal, mais le crosstalk entre ces PTM sur CD28 reste peu exploré (Leutert et al., 2021; Jin et al., 2025). De plus, les avancées récentes en protéomique et en techniques d'amarrage moléculaire pourraient permettre d'élucider comment la bromélaïne pourrait influencer ces remaniements moléculaires (Gan & Fan, 2024). Une telle approche permettrait d'affiner le contrôle de l'activation lymphocytaire via CD28, ouvrant ainsi des perspectives thérapeutiques innovantes pour le traitement de diverses pathologies immunomédiées (Zhang et al., 2025). Ces recherches futures sont essentielles pour mieux comprendre les effets potentiels de la bromélaïne sur les modifications post-traductionnelles et leur impact fonctionnel sur la signalisation immunitaire (Maček et al., 2019).

5.1.2 Caractérisation des isoformes de CD28 et de leur rôle dans la modulation immunitaire :

Le récepteur CD28 présente une hétérogénéité moléculaire à travers diverses isoformes issues de l'épissage alternatif, chacune étant dotée de propriétés structurales et fonctionnelles uniques. Cette diversité isoformique influence la capacité de CD28 à moduler la co-stimulation des lymphocytes T dans différents contextes immunitaires, bien que les détails précis restent encore à élucider (Burke et al., 2024). Actuellement, l'influence de la bromélaïne sur ces variantes spécifiques demeure largement inexplorée par la communauté scientifique. Élucider ces interactions permettrait de préciser l'action de ce composé sur la co-stimulation des lymphocytes T au sein de divers environnements pathologiques. Les investigations futures devront donc s'attacher à caractériser précisément les isoformes de CD28 et à évaluer leur réactivité moléculaire face à la bromélaïne, ce qui est indispensable pour affiner la compréhension de la modulation

immunitaire médiée par ce récepteur (Burke et al., 2024; Banta et al., 2022). Une meilleure connaissance des isoformes et de leurs interactions avec des composés naturels comme la bromélaïne pourrait ouvrir des perspectives thérapeutiques innovantes dans le traitement des maladies immunomédiées.

5.1.3 Évaluation préclinique et validation *in vivo* de l'impact de la bromélaïne sur la signalisation CD28 :

L'essentiel de la recherche actuelle concernant l'influence de la bromélaïne sur le récepteur CD28 repose sur des approches computationnelles ou des systèmes *in vitro*. Bien que prometteurs, ces résultats nécessitent une validation au sein d'organismes vivants pour franchir une étape déterminante. L'usage de modèles *in vivo* et la réalisation d'études cliniques s'avèrent indispensables pour confirmer les prédictions théoriques et évaluer la portée thérapeutique de la bromélaïne dans des contextes physiopathologiques réels. De telles explorations sont vitales pour analyser la dynamique de cette interaction dans la complexité systémique du système immunitaire, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles stratégies contre les maladies auto-immunes et inflammatoires chroniques. En effet, les études sur les co-stimulateurs T comme CD28 montrent que leur modulation *in vivo* est complexe et nécessite des validations approfondies pour comprendre pleinement leur rôle dans l'activation lymphocytaire (Hui et al., 2016; Zhao et al., 2020; Cappell & Kochenderfer, 2021). Ces recherches futures permettront d'évaluer l'efficacité et la sécurité potentielles de la bromélaïne en tant qu'agent modulateur immunitaire dans des modèles animaux puis cliniques.

5.1.4 Intégration de CD28 au sein des réseaux d'interactions complexes du microenvironnement cellulaire :

Le microenvironnement cellulaire régissant l'activité du récepteur CD28 est caractérisé par une complexité extrême, impliquant des médiateurs lipidiques, des gradients ioniques particulièrement calciques et une multitude de protéines de signalisation. Ces éléments contextuels modulent finement la co-stimulation des lymphocytes T et influencent la dynamique de l'activation immunitaire (Hui et al., 2016; Guedan et al., 2020). Les interactions de la bromélaïne avec ces composantes n'ont pas encore fait l'objet d'investigations approfondies, bien que ce

principe actif pourrait potentiellement influencer des processus clés tels que l'immunométabolisme, l'autophagie ou la gestion du stress cellulaire, qui sont étroitement liés à la voie de co-stimulation CD28. Comprendre comment la bromélaïne modifie ces mécanismes systémiques est crucial pour saisir son impact sur la modulation de la réponse immunitaire dans un contexte physiologique complexe (Roselli et al., 2021). Les recherches futures devront donc explorer ces interactions au sein d'environnements cellulaires intégrés afin d'identifier les effets potentiels sur la fonction immunitaire et les applications thérapeutiques associées. Cette approche permettra d'éclairer le rôle multifactoriel du microenvironnement dans la régulation du récepteur CD28 et son interaction avec des composés bioactifs comme la bromélaïne.

5.1.5 Modulation de la pyroptose par la bromélaïne :

L'une des conséquences majeures de l'activation de CD28 réside dans l'expansion clonale et la sécrétion massive de cytokines pro-inflammatoires. Bien que la modulation de CD28 par la bromélaïne suggère un potentiel thérapeutique prometteur, les mécanismes précis par lesquels ce composé interfère avec les cascades effectrices de la réponse T restent incertains. La bromélaïne a démontré une capacité à réduire la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-6 et d'autres médiateurs via l'inhibition des voies de signalisation NF- κ B et MAPK, ce qui pourrait influencer la survie et la prolifération des lymphocytes T (Insuan et al., 2021; Nobre et al., 2024). De plus, son effet anti-inflammatoire s'accompagne d'une modulation des réponses immunitaires, notamment en limitant les phénomènes d'activation excessive susceptibles de conduire à des dérives immunopathologiques dans les maladies inflammatoires et auto-immunes (Ferreira et al., 2023). Les recherches futures devront approfondir comment la bromélaïne impacte spécifiquement les voies intracellulaires régulant la co-stimulation CD28 afin d'évaluer son potentiel à contrôler l'hyperactivation lymphocytaire. Cette exploration est essentielle pour déterminer si la bromélaïne peut être utilisée comme un modulateur efficace pour limiter les complications liées à une co-stimulation excessive dans divers contextes pathologiques.

5.2 Perspectives pour les Recherches Numériques et Expérimentales Futures

L'exploration future des interactions entre bromélaïne et cd 28 profitera grandement des innovations en biotechnologie et modélisation computationnelle. Plusieurs orientations de recherche majeures se profilent désormais pour approfondir la compréhension de ces mécanismes

5.2.1 Perfectionnement des Modèles Bioinformatiques et des Algorithmes d'Amarrage (Docking) :

L'exactitude des simulations actuelles constitue un enjeu majeur pour les recherches *in silico*. Concernant l'étude structurale de CD28, l'usage du docking flexible associé à la dynamique moléculaire permettrait de mieux reproduire la réalité physique des liaisons biochimiques. En intégrant les effets du solvant ainsi que la diversité de l'espace cellulaire, la fiabilité des prévisions globales s'en trouverait largement renforcée. De telles avancées méthodologiques faciliteraient alors grandement l'élaboration de solutions thérapeutiques innovantes, hautement précises et parfaitement adaptées aux exigences particulières du milieu biologique humain très complexe (Vidal-Limon, Aguilar-Toalá & Liceaga, 2022; Xu et al., 2025; Ahmad Hidayat & Mohamad, 2025). L'approche par docking ensembliste combinée à la dynamique moléculaire offre une meilleure prise en compte de la flexibilité protéique et améliore la prédiction des interactions ligand-protéine (Gómez Borrego & Torrent Burgas, 2025). Ces méthodes permettent ainsi d'optimiser la conception rationnelle de médicaments ciblant des protéines comme CD28 dans un contexte biomoléculaire dynamique (Xu et al., 2025; Ahmad Hidayat & Mohamad, 2025).

5.2.2 Implémentation de la Modélisation Prédicative via l'IA et l'Apprentissage Automatique :

L'intelligence artificielle et l'apprentissage automatique révolutionnent véritablement l'analyse de données biologiques massives afin d'anticiper les liaisons protéiques complexes et de perfectionner les simulations numériques actuelles. En exploitant des algorithmes sophistiqués, il devient possible d'évaluer particulièrement la dynamique interactive entre la bromélaïne et le récepteur CD28. Ces approches technologiques novatrices facilitent ainsi l'identification de cibles thérapeutiques inédites et la découverte de nouveaux modulateurs immunitaires performants pour la future recherche clinique et scientifique de pointe (Hein et al., 2025; Casadio, Martelli & Savojardo, 2022; Cui et al., 2025). Les méthodes basées sur le deep learning, notamment les réseaux de neurones graphiques et les architectures Transformer, améliorent significativement la prédiction des interactions protéine-protéine en intégrant des données structurales et séquentielles complexes (Lee, 2023; Kiouri, Batsis & Chasapis, 2025). Par ailleurs, l'intégration de ces outils avec des modèles cognitifs ouvre la voie à une meilleure compréhension des mécanismes

biologiques sous-jacents et à une conception plus précise de médicaments ciblés (Coskuner-Weber, Gentili & Uversky, 2025).

5.2.3 Développement de Nouveaux Modèles In Vivo et Protocoles Cliniques :

L'utilisation de modèles in vivo s'avère aujourd'hui indispensable pour saisir l'impact systémique de la bromélaïne sur le récepteur CD28 et les mécanismes immunitaires globaux. Des expérimentations cliniques sur des modèles animaux permettront de valider la sécurité ainsi que l'efficacité de la bromélaïne au sein de contextes pathologiques très réels. Ces études devront impérativement évaluer les conséquences physiologiques à long terme, notamment en cas d'inflammation chronique ou d'auto-immunité (Zhou et al., 2021; Roselli et al., 2021; Zhang et al., 2025). Les modèles murins permettent d'observer les effets co-stimulateurs du CD28 dans des environnements immunitaires complexes, essentiels pour comprendre les réponses thérapeutiques potentielles (Cappell & Kochenderfer, 2021). Par ailleurs, l'évaluation in vivo est cruciale pour tester la modulation pharmacologique ciblée du CD28, comme avec des inhibiteurs spécifiques récemment développés (Upadhyay et al., 2025).

5.2.4 Méthodologies de Personnalisation des Protocoles Thérapeutiques :

L'analyse génomique et la médecine de précision représentent des innovations majeures pour transformer le traitement des maladies inflammatoires. Les variations génétiques individuelles influençant le récepteur CD28 ou l'immunité peuvent modifier l'efficacité de la bromélaïne. De futures recherches devraient examiner la personnalisation thérapeutique via des tests génétiques et l'expression génique pour optimiser l'emploi de la bromélaïne selon les traits biologiques propres à chaque profil de patient spécifique et particulier (Gardiner et al., 2022; Chen et al., 2024; Vieujean & Louis, 2023). L'intégration de données multi-omiques et démographiques permet d'anticiper les réponses aux traitements anti-inflammatoires, favorisant ainsi une médecine plus ciblée et efficace (Caballero Mateos, Cañadas de la Fuente & Gros, 2025). Ces approches innovantes sont essentielles pour surmonter l'hétérogénéité clinique des maladies inflammatoires et améliorer les résultats thérapeutiques (Yuan et al., 2025).

5.2.5 Validation en Milieu Clinique et Phases de Développement de Nouvelles Formulations Médicamenteuses :

Bien que la bromélaïne soit déjà employée cliniquement, des recherches approfondies demeurent indispensables pour confirmer son action contre les pathologies inflammatoires. La mise en place d'essais de phases I et II permettrait de quantifier l'innocuité, l'efficacité et la posologie idéale de cet agent immunomodulateur. En outre, concevoir des formulations innovantes associant la bromélaïne à d'autres anti-inflammatoires ou à des inhibiteurs spécifiques de CD28 pourrait offrir des perspectives thérapeutiques inédites pour la prise en charge des désordres inflammatoires chroniques (Chakraborty et al., 2021; Pereira et al., 2023; Nobre et al., 2024). La bromélaïne a montré une capacité à réduire plusieurs marqueurs inflammatoires tels que IL-6, TNF- α , COX-2 et NF- κ B, via la modulation des voies NF- κ B et MAPK, ce qui justifie l'exploration de combinaisons thérapeutiques ciblées (Insuan et al., 2021; Pothacharoen et al., 2021). Les essais cliniques restent toutefois hétérogènes en termes de doses, durée et populations étudiées, soulignant le besoin d'études standardisées pour définir les protocoles optimaux (Pereira et al., 2023). Ces avancées pourraient ouvrir la voie à des traitements plus sûrs et personnalisés pour les maladies inflammatoires chroniques.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Confidentielle

Chapitre III : Résultat Et interprétation

Confidentielle

Chapitre IV : Discussion

L'objectif central de ce travail était d'élucider, par une approche de modélisation moléculaire *in silico*, les bases structurales de l'interaction entre la bromélaïne, une cystéine protéase issue d'*Ananas comosus*, et le récepteur de costimulation CD28. Nos résultats apportent une preuve théorique solide de la formation d'un complexe stable entre ces deux entités, ouvrant ainsi des perspectives inédites sur les mécanismes moléculaires par lesquels la bromélaïne exerce ses effets immunomodulateurs documentés (Nobre et al., 2024; Varilla et al., 2021).

La validité d'une prédiction de docking repose prioritairement sur la convergence énergétique des modèles (Geng et al., 2018; McFee & Kim, 2022; Weng et al., 2019). Dans notre étude, le cluster sélectionné présente un score HADDOCK de $-190,9 \pm 25,8$ et un Z-score de -1,8. En bioinformatique structurale, un Z-score inférieur à -1,5 est généralement considéré comme un indicateur de fiabilité statistique, signifiant que la pose retenue est significativement plus favorable que la moyenne des autres configurations explorées (Geng et al., 2018; Shirali et al., 2025).

Cette stabilité est corroborée par l'analyse MM/GBSA, qui suggère une affinité de liaison dans l'échelle nanomolaire, approche couramment utilisée pour estimer les énergies libres de liaison dans le docking protéines-protéines et protéines-peptides (Spiliotopoulos et al., 2016; Weng et al., 2019). Une telle affinité théorique est comparable à celle observée pour les ligands physiologiques du CD28, à savoir CD80 et CD86, qui assurent la costimulation T via le domaine IgV (Burke et al., 2024; Lotze et al., 2024; Nakahata & Morishita, 2020). Sur le plan thermodynamique, cela indique que l'interaction bromélaïne-CD28 n'est pas un simple artefact de surface, mais un événement de reconnaissance moléculaire favorisé par une diminution importante de l'énergie libre du système (ΔG) (Spiliotopoulos et al., 2016).

L'interface de contact révélée par PDBsum met en évidence une architecture complexe stabilisée par 10 liaisons hydrogène et 2 ponts salins, un schéma cohérent avec les interfaces de complexes protéines-protéines de haute affinité (Geng et al., 2018; McFee & Kim, 2022). La densité de ces interactions non covalentes est un gage de la spécificité de la liaison.

L'implication de résidus clés tels que l'Arg19, Lys13 et Lys122 du côté de CD28 est cruciale. Ces résidus cationiques sont stratégiquement positionnés pour interagir avec les groupements anioniques (Asp10, Glu47, Glu51) de la bromélaïne. La formation de ponts salins

(notamment entre la Lys39 de la bromélaïne et l'Asp135 du CD28) est particulièrement structurante : ces interactions électrostatiques à longue portée agissent comme des "ancres" qui stabilisent l'orientation de l'enzyme sur le domaine extracellulaire IgV du récepteur (Burke et al., 2024; Lotze et al., 2024).

Par ailleurs, la présence de résidus aromatiques comme la Tyr11 et la Tyr190 sur la bromélaïne suggère des interactions de type π -stacking ou des liaisons hydrogène fortes via leurs groupements hydroxyles, caractéristiques fréquemment observées aux interfaces immunologiques flexibles permettant un ajustement induit (induced fit) et une augmentation de la surface de contact enfouie (Geng et al., 2018; McFee & Kim, 2022).

L'un des points les plus significatifs de cette discussion réside dans la localisation de l'interaction. Le CD28 exerce sa fonction biologique en s'associant à ses ligands naturels (B7-1/B7-2) au niveau d'un épitope spécifique du domaine IgV (Burke et al., 2024; Lotze et al., 2024; Nakahata & Morishita, 2020). Nos résultats montrent que la bromélaïne se lie précisément à ce domaine, impliquant des résidus comme Thr74, Ser75 et Gln82.

D'un point de vue mécanistique, l'occupation de ces sites par la bromélaïne induirait un encombrement stérique majeur empêchant la formation du complexe physiologique CD28-CD80/86. En bloquant physiquement l'accès au domaine IgV, la bromélaïne agirait comme un antagoniste compétitif, à l'image des antagonismes de liaison B7 documentés entre CTLA-4, CD28 et PD-1/Pd-L1 (Burke et al., 2024). En immunologie, l'absence de ce "second signal" de costimulation conduit inévitablement à une anergie lymphocytaire ou à une réponse T incomplète, la costimulation CD28 contrôlant directement la prolifération, le cycle cellulaire et l'expression de cytokines des lymphocytes T (Glinos et al., 2020; Lotze et al., 2024; Nakahata & Morishita, 2020). Cela explique, à l'échelle moléculaire, pourquoi la bromélaïne réduit la prolifération des lymphocytes T et la production d'IL-2, comme cela a été observé dans plusieurs études in vitro sur l'immunomodulation de la bromélaïne (Varilla et al., 2021).

L'interaction prédite au niveau extracellulaire a des répercussions directes sur l'organisation de la queue cytoplasmique du CD28. Normalement, la liaison des ligands B7 induit une oligomérisation du CD28, nécessaire au recrutement de la PI3K via le motif YMNM et d'autres motifs intracellulaires (Lotze et al., 2024; Nakahata & Morishita, 2020; Zheng et al., 2018).

Si la bromélaïne stabilise une conformation inactive ou empêche le regroupement des récepteurs en microclusters (comme suggéré par les études sur les interactions cis CD28–B7 dépendantes de SNX9 et du recrutement PI3K, maintenant un signal CD28 tonique après l'activation initiale) (Lotze et al., 2024), la cascade de signalisation PI3K/Akt/NF- κ B serait drastiquement atténuée (Lotze et al., 2024; Zheng et al., 2018). Nos résultats soutiennent l'hypothèse que la bromélaïne ne se contente pas de "digérer" les récepteurs de surface par son activité protéolytique, mais qu'elle peut également agir comme un ligand modulateur. Cette double fonctionnalité enzymatique et inhibitrice de contact confère à la bromélaïne un profil pharmacologique unique dans le traitement potentiel des maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux ou la polyarthrite rhumatoïde, en cohérence avec ses effets anti-inflammatoires et immunomodulateurs rapportés (Varilla et al., 2021; Chakraborty et al., 2021; Nobre et al., 2024).

Il est fondamental de distinguer le mécanisme d'action modélisé dans cette étude de l'activité biologique classique de la stem bromélaïne. En immunologie, cette enzyme est historiquement décrite comme une cystéine protéase dont les effets immunomodulateurs reposent sur son activité protéolytique, notamment via le clivage enzymatique ("shedding") des récepteurs de surface des lymphocytes T comme CD28, CD25 ou CD44. À l'inverse, nos résultats de docking mettent en évidence une activité non protéasique (ou non protéolytique) de la bromélaïne. Dans ce scénario, l'enzyme n'agit pas comme des "ciseaux moléculaires" pour dégrader sa cible, mais comme un ligand non covalent classique. En s'associant de manière stable au domaine extracellulaire du CD28, elle exerce un effet d'encombrement stérique qui bloque l'accès aux ligands physiologiques CD80/CD86, mimant ainsi l'action d'un antagoniste pharmacologique classique. Cette distinction suggère que la bromélaïne possède une double modalité d'action : une modulation fonctionnelle par simple liaison physique et blocage de récepteur (activité non protéasique), qui peut coexister avec la régulation négative par dégradation enzymatique (activité protéolytique).

La littérature rapporte que la bromélaïne diminue l'expression de récepteurs et modifie la fonction de cellules immunitaires, avec à la fois des effets activateurs et inhibiteurs sur les réponses des lymphocytes T, incluant une inhibition de certaines réponses T in vitro (Varilla et al., 2021; Chakraborty et al., 2021). Notre travail propose un mécanisme complémentaire : avant même la

régulation négative de l'expression protéique, il existe une interaction directe de haute affinité capable de neutraliser fonctionnellement les récepteurs déjà présents.

La réduction des médiateurs pro-inflammatoires (TNF- α , IL-6, IFN- γ) observée in vitro et cliniquement après exposition à la bromélaïne ou à des formulations dérivées (comme BromAc) pourrait donc être la conséquence directe de ce blocage précoce de la synapse immunologique et de la modulation de réseaux cytokiniques (Nobre et al., 2024; Ferreira et al., 2023; Hong et al., 2021; Pereira et al., 2023; Varilla et al., 2021). De plus, en modulant la voie CD28, la bromélaïne pourrait favoriser l'émergence de lymphocytes T régulateurs (Tregs), contribuant ainsi à la restauration de la tolérance immunitaire, un enjeu majeur en immuno-intervention (Glinos et al., 2020; Lotze et al., 2024).

Bien que nos simulations soient robustes et basées sur des algorithmes de pointe (HADDOCK 2.4, MM/GBSA) (Spiliotopoulos et al., 2016; Geng et al., 2018; Weng et al., 2019; Shirali et al., 2025), elles restent intrinsèquement théoriques. Le docking "aveugle" ne prend pas totalement en compte la glycosylation complexe du CD28 in vivo, qui pourrait influencer l'accessibilité de certains résidus.

Pour confirmer ces preuves moléculaires, plusieurs étapes sont indispensables :

1. Résonance Plasmonique de Surface (SPR) : Pour mesurer les constantes de vitesse (K_a , K_d) et confirmer l'affinité nanomolaire, comme cela se fait couramment pour valider des affinités issues de MM/GBSA et de scores de docking (Spiliotopoulos et al., 2016; Weng et al., 2019).
2. Essais de Compétition : Utiliser des anticorps anti-CD28 dirigés contre le site de liaison des ligands B7 pour vérifier si la bromélaïne déplace ces anticorps, à la lumière des interactions concurrentielles déjà décrites entre CD28, CTLA-4, PD-1 et leurs ligands B7/PD-L1 (Burke et al., 2024; Lotze et al., 2024).
3. Analyse par Cryo-Microscopie Électronique (Cryo-EM) : Pour visualiser la structure atomique réelle du complexe bromélaïne-CD28, en complément des modèles in silico, comme cela se fait de plus en plus pour les complexes de co-récepteurs immunitaires (Lotze et al., 2024)

Chapitre V : Conclusion et perspectives

Pour conclure de manière synthétique, cette exploration *in silico* a mis en lumière les mécanismes d'interaction entre la bromélaïne et le récepteur de co-stimulation CD28, acteur essentiel de la réponse immunitaire adaptative. L'évaluation thermodynamique des complexes protéiques prédit une affinité de liaison robuste, atteignant l'échelle nanomolaire, suggérant une interaction moléculaire à la fois stable et hautement spécifique. Le repérage des résidus critiques au sein de l'interface protéique, précisément dans le domaine extracellulaire du CD28, fournit des indices précieux sur la capacité de la bromélaïne à entraver la reconnaissance des ligands B7-1 et B7-2.

Bien que ces données bioinformatiques requièrent une validation biologique rigoureuse, elles suggèrent que la bromélaïne pourrait moduler la co-stimulation des lymphocytes T, régulant ainsi la sécrétion de cytokines effectrices telles que l'IL-2. Cibler la voie de signalisation du CD28 représente une stratégie thérapeutique d'avenir pour traiter les pathologies auto-immunes et prévenir le rejet de greffe. Les propriétés immunomodulatrices de cette enzyme végétale, ici caractérisées, ouvrent la voie à des approches innovantes visant à restaurer l'homéostasie immunitaire et à tempérer l'hyperréactivité systémique. Néanmoins, des expérimentations complémentaires sont impératives pour confirmer ces observations et préciser l'impact moléculaire précis de la bromélaïne sur la dynamique du CD28 dans divers environnements physiopathologiques et cliniques complexes afin de mieux comprendre son véritable potentiel pharmacologique.

Chapitre VI : Bibliographies

Agu, P., Afiukwa, C., Orji, O., Ezech, E., Ofoke, I., Ogbu, C., Ugwuja, E., & Aja, P. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*, 13. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>

Ashizawa, R., Kotelnikov, S., Khan, O., Li, S., Glukhov, E., Cao, X., Lazou, M., Bekar-Cesaretli, A., Hailegeorgis, D., Averkava, V., Zhu, Y., Jones, G., Yu, H., Kalitin, D., Stepanenko, D., Koirala, K., Patsahan, T., Beglov, D., Lukin, M., Joseph-Mccarthy, D., Simmerling, C., Tropsha, A., Coutias, E., Dill, K., Padhorny, D., Vajda, S., & Kozakov, D. (2025). Modeling Protein–Protein and Protein–Ligand Interactions by the ClusPro Team in CASP16. *Proteins*, 94, 183 - 191. <https://doi.org/10.1002/prot.70066>

Bakare, A. A., & Owoyele, B. V. (2021). Bromelain reduced pro-inflammatory mediators as a common pathway that mediate antinociceptive and anti-anxiety effects in sciatic nerve ligated Wistar rats. *Scientific Reports*, 11, 3407. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82827-9>

Banta, K., Xu, X., Chitre, A., Au-Yeung, A., Takahashi, C., O'Gorman, W., Wu, T., Mittman, S., Cubas, R., Comps-Agrar, L., Fulzele, A., Bennett, E., Grogan, J., Hui, E., Chiang, E., & Mellman, I. (2022). Mechanistic convergence of the TIGIT and PD-1 inhibitory pathways necessitates co-blockade to optimize anti-tumor CD8+ T cell responses. *Immunity*, 55, 512 - 526.e9. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2022.02.005>

Benkert, P., Biasini, M., & Schwede, T. (2011). Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*, 27(3), 343–350. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq662>

Borrego, J., & Burgas, M. (2025). Evaluating ligand docking methods for drugging protein–protein interfaces: insights from AlphaFold2 and molecular dynamics refinement. *Journal of Cheminformatics*, 17. <https://doi.org/10.1186/s13321-025-01067-4>

Borrego, J., & Burgas, M. (2025). Evaluating ligand docking methods for drugging protein–protein interfaces: insights from AlphaFold2 and molecular dynamics refinement. *Journal of Cheminformatics*, 17. <https://doi.org/10.1186/s13321-025-01067-4>

Bowie, J. U., Zhang, K. Y. J., Wilmanns, M., & Eisenberg, D. (1996). Three-dimensional profiles for measuring compatibility of amino acid sequence with three-dimensional structure. *Methods in Enzymology*, 266, 517–525. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(96\)66033-0](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(96)66033-0)

Brady, A., & McGeachy, M. (2024). Examining the outcomes of enhanced CD28 signaling in vivo using ‘humanized’ mice. *The Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.212.suppl.0521.4737>

Bryant, P., Pozzati, G., & Elofsson, A. (2021). Improved prediction of protein-protein interactions using AlphaFold2. *Nature Communications*, 13. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28865-w>

Burke K.P., Chaudhri A., Freeman G.J., & Sharpe A.H.(2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions. *Immunity*, 57(2), 123–139 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.12.005>

Burke, K. P., Chaudhri, A., Freeman, G. J., & Sharpe, A. H. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions. *Immunity*, 57(2), 214–233. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.12.021>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions.. *Immunity*, 57 2, 223-244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions.. *Immunity*, 57 2, 223-244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions.. *Immunity*, 57 2, 223-244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions.. *Immunity*, 57 2, 223-244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions.. *Immunity*, 57 2, 223-244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burke, K., Chaudhri, A., Freeman, G., & Sharpe, A. (2024). The B7:CD28 family and friends: Unraveling coinhibitory interactions. *Immunity*, 57(2), 223–244. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.013>

Burley, S. K. (2013). PDB40: The Protein Data Bank celebrates its 40th birthday. *Biopolymers*, 99(3), 165–175. <https://doi.org/10.1002/bip.22182>

Burley, S. K., Kurisu, G., Markley, J. L., Velankar, S., & Hoch, J. C. (2021). The Protein Data Bank archive. *Methods in Molecular Biology*, 2305, 3–21. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1406-8_1

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Cappell, K., & Kochenderfer, J. (2021). A comparison of chimeric antigen receptors containing CD28 versus 4-1BB costimulatory domains. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 18, 715 - 727. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00530-z>

Casadio R ., Martelli PL ., Savojardo C . (2022) . Machine learning solutions for predicting protein–protein interactions . *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* , 12 (2) , e1568 . <https://doi.org/10.1002/wcms.1568>

Ceeraz, S., Thompson, C., Beatson, R., & Choy, E. (2021). Harnessing CD8+CD28– Regulatory T Cells as a Tool to Treat Autoimmune Disease. *Cells*, 10. <https://doi.org/10.3390/cells10112973>

Chakraborty, A., Mitra, S., Tallei, T. E., Tareq, A. M., Nainu, F., Cicia, D., ... Capasso, R. (2021). Bromelain a potential bioactive compound: A comprehensive overview from a pharmacological perspective. *Life*, 11(4), 317. <https://doi.org/10.3390/life11040317>

Chakraborty, A., Mitra, S., Tallei, T. E., Tareq, A. M., Nainu, F., Cicia, D., ... Capasso, R. (2021). Bromelain a potential bioactive compound: A comprehensive overview from a pharmacological perspective. *Life*, 11(4), 317. <https://doi.org/10.3390/life11040317>

Chakraborty, A., Mitra, S., Tallei, T., Tareq, A., Nainu, F., Cicia, D., Dhama, K., Emran, T., Simal-Gándara, J., & Capasso, R. (2021). Bromelain a potential bioactive compound: A comprehensive overview from a pharmacological perspective. *Life*, 11, 317. <https://doi.org/10.3390/life11040317>

Choe, E.-J., Lee, C.-H., Bae, J., Park, J.-M., Park, S.-S., & Baek, M. (2022). Atorvastatin enhances the efficacy of immune checkpoint therapy and suppresses the cellular and extracellular vesicle PD-L1. *Pharmaceutics*, 14(8), 1663. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081663>

Choi, J., & Lee, J. (2021). V-Dock: Fast Generation of Novel Drug-like Molecules Using Machine-Learning-Based Docking Score and Molecular Optimization. *International Journal of Molecular Sciences*, 22. <https://doi.org/10.3390/ijms222111635>

Choi, S., Son, S., Kim, M., Na, I., Uversky, V., & Kim, C. (2023). Improved prediction of protein-protein interactions by a modified strategy using three conventional docking software in

combination.. *International journal of biological macromolecules*, 126526.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126526>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Ciesielska-Figlon, K., & Lisowska, K. (2024). The Role of the CD28 Family Receptors in T-Cell Immunomodulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 25.
<https://doi.org/10.3390/ijms25021274>

Colovos, C., & Yeates, T. O. (1993). Verification of protein structures: patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*, 2(9), 1511–1519. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020916>

Colovos, C., & Yeates, T. O. (1993). Verification of protein structures: Patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*, 2(9), 1511–1519. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020916>

Das, N., Khan, T., Subba, N., & Sen, P. (2021). Correlating Bromelain's activity with its structure and active-site dynamics and the medium's physical properties in a hydrated deep eutectic solvent.. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 23 15, 9337-9346. <https://doi.org/10.1039/d1cp00046b>

Ecker, M., Schregle, R., Kapoor-Kaushik, N., Rossatti, P., Betzler, V., Kempe, D., Biro, M., Ariotti, N., Redpath, G., & Rossy, J. (2022). SNX9-induced membrane tubulation regulates CD28 cluster stability and signalling. *eLife*, 11. <https://doi.org/10.7554/elife.67550>

Ecker, M., Schregle, R., Kapoor-Kaushik, N., Rossatti, P., Betzler, V., Kempe, D., Biro, M., Ariotti, N., Redpath, G., & Rossy, J. (2022). SNX9-induced membrane tubulation regulates CD28 cluster stability and signalling. *eLife*, 11. <https://doi.org/10.7554/elife.67550>

Ecker, M., Schregle, R., Kapoor-Kaushik, N., Rossatti, P., Betzler, V., Kempe, D., Biro, M., Ariotti, N., Redpath, G., & Rossy, J. (2022). SNX9-induced membrane tubulation regulates CD28 cluster stability and signalling. *eLife*, 11. <https://doi.org/10.7554/elife.67550>

Eisenberg, D., Lütthy, R., & Bowie, J. U. (1997). VERIFY3D: Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Methods in Enzymology*, 277, 396–404. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(97\)77022-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(97)77022-8)

Engwerda, C. R., Andrew, D., Ladhams, A., & Mynott, T. (2001). Bromelain modulates T cell and B cell immune responses in vitro and in vivo. *Cellular Immunology*, 210(1), 66–75. <https://doi.org/10.1006/cimm.2001.1807>

Esensten, J. H., Helou, Y. A., Chopra, G., Weiss, A., & Bluestone, J. A. (2016). CD28 costimulation: From mechanism to therapy. *Immunity*, 44(5), 973–988.

Esensten, J., Helou, Y., Chopra, G., Weiss, A., & Bluestone, J. (2016). CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy.. *Immunity*, 44 5, 973-88. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.04.020>

Ferreira, G., Clarindo, F., Ribeiro, Á., Gomes-De-Pontes, L., De Carvalho, L., Martins-Filho, O., Da Fonseca, F., Teixeira, M., Sabino, A., Eapen, M., Morris, D., Valle, S., & Coelho-Dos-Reis, J.

(2023). Taming the SARS-CoV-2-mediated proinflammatory response with BromAc®. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1308477>

Ferreira, G., Clarindo, F., Ribeiro, Á., Gomes-De-Pontes, L., De Carvalho, L., Martins-Filho, O., Da Fonseca, F., Teixeira, M., Sabino, A., Eapen, M., Morris, D., Valle, S., & Coelho-Dos-Reis, J. (2023). Taming the SARS-CoV-2-mediated proinflammatory response with BromAc®. *Frontiers in Immunology*, 14, 1308477. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1308477>

Fitzhugh, D. J., Shan, S., Dewhirst, M. W., & Hale, L. P. (2008). Bromelain treatment decreases neutrophil migration to sites of inflammation. *Clinical Immunology*, 128(1), 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2008.03.509>

Fontan, L., Zwolak, A., Guimerans-Lorenzo, I., Bekkers, M., Hein, N., Vloemans, N., Trella, E., Smets, T., Cornelissen, I., Assefa, A., Verbist, B., Amorim, R., Seth, P., Dash, R., Luistro, L., Mattson, B., Dragovich, M., Hedvat, M., Moore, G., Desjarlais, J., Kutlu, O., Erhardt, J., & Philippar, U. (2024). JNJ-87801493 (CD20xCD28), a Potential First-in-Class CD20 Targeted CD28 Costimulatory Bispecific Antibody, Enhances the Activity of B-Cell Targeting T-Cell Engagers in Preclinical Models. *Blood*. <https://doi.org/10.1182/blood-2024-200666>

Gan, Q., & Fan, C. (2024). Orthogonal Translation for Site-Specific Installation of Post-translational Modifications.. *Chemical reviews*. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.3c00850>

Geltink, R., O’Sullivan, D., Corrado, M., Bremser, A., Buck, M., Buescher, J., Firat, E., Zhu, X., Niedermann, G., Caputa, G., Kelly, B., Warthorst, U., Rensing-Ehl, A., Kyle, R., Vandersarren, L., Curtis, J., Patterson, A., Lawless, S., Grzes, K., Qiu, J., Sanin, D., Kretz, O., Huber, T., Janssens, S., Lambrecht, B., Rambold, A., Pearce, E., & Pearce, E. (2017). Mitochondrial Priming by CD28. *Cell*, 171, 385-397.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.08.018>

Geng, C., Jung, Y., Renaud, N., Honavar, V., Bonvin, A., & Xue, L. (2018). iScore: A novel graph kernel-based function for scoring protein–protein docking models. *Bioinformatics*, 36, 112–121. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz496>

Glinos, D., Soskic, B., Williams, C., Kennedy, A., Jostins, L., Sansom, D., & Trynka, G. (2020). Genomic profiling of T-cell activation suggests increased sensitivity of memory T cells to CD28 costimulation. *Genes and Immunity*, 21, 390–408. <https://doi.org/10.1038/s41435-020-00118-0>

González-Grandón, X., Falcón-Cortés, A., & Ramos-Fernández, G. (2021). Proprioception in Action: A Matter of Ecological and Social Interaction. *Frontiers in Psychology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.569403>

Guedan, S., Madar, A., Casado-Medrano, V., Shaw, C., Wing, A., Liu, F., Young, R., June, C., & Posey, A. (2020). Single residue in CD28-costimulated CAR T cells limits long-term persistence and antitumor durability.. *The Journal of clinical investigation*. <https://doi.org/10.1172/jci133215>

Hikisz, P., & Bernasińska-Słomczewska, J. (2021). Beneficial properties of bromelain. *Nutrients*, 13(11), 4313. <https://doi.org/10.3390/nu13114313>

Hikisz, P., & Bernasińska-Słomczewska, J. (2021). Beneficial properties of bromelain. *Nutrients*, 13(11), 4313. <https://doi.org/10.3390/nu13114313>

Hitomi, Y., Aiba, Y., Ueno, K., Nishida, N., Kawai, Y., Kawashima, M., Tsuiji, M., Iwabuchi, C., Takada, S., Miyake, N., Nagasaki, M., Tokunaga, K., & Nakamura, M. (2022). rs2013278 in the multiple immunological-trait susceptibility locus CD28 regulates the production of non-functional splicing isoforms. *Human Genomics*, 16. <https://doi.org/10.1186/s40246-022-00419-7>

Hong, J., Kim, M., Lee, B., Oh, W., Min, K., Im, Y., & Hwang, Y. (2021). Anti-inflammatory and mineralization effects of bromelain on lipopolysaccharide-induced inflammation of human dental pulp cells. *Medicina*, 57, 591. <https://doi.org/10.3390/medicina57060591>

Huete-Carrasco, J., Lynch, R., Ward, R., & Lavelle, E. (2023). Rational design of polymer-based particulate vaccine adjuvants. *European Journal of Immunology*, 54. <https://doi.org/10.1002/eji.202350512>

Hui, E., Cheung, J., Zhu, J., Su, X., Taylor, M., Wallweber, H., Sasmal, D., Huang, J., Kim, J., Mellman, I., & Vale, R. (2016). T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1–mediated inhibition. *Science*, 355, 1428 - 1433. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1292>

Hui, E., Cheung, J., Zhu, J., Su, X., Taylor, M., Wallweber, H., Sasmal, D., Huang, J., Kim, J., Mellman, I., & Vale, R. (2016). T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1–mediated inhibition. *Science*, 355, 1428 - 1433. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1292>

Hui, E., Cheung, J., Zhu, J., Su, X., Taylor, M., Wallweber, H., Sasmal, D., Huang, J., Kim, J., Mellman, I., & Vale, R. (2016). T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1–mediated inhibition. *Science*, 355, 1428 - 1433. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1292>

Hülskötter, K., Lühder, F., Leitzen, E., Flügel, A., & Baumgärtner, W. (2023). CD28-signaling can be partially compensated in CD28-knockout mice but is essential for virus elimination in a murine model of multiple sclerosis. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1105432>

Insuan, O., Chaiwongsa, R., Chanmee, T., Wongwichai, T., Janchai, P., Vaithanomsat, P., & Pothacharoen, P. (2021). Bromelain extract exerts antiarthritic effects via chondroprotection and the suppression of TNF- α –induced NF- κ B and MAPK signaling. *Plants*, 10(11), 2305. <https://doi.org/10.3390/plants10112305>

Insuan, O., Janchai, P., Thongchuai, B., Chaiwongsa, R., Khamchun, S., Saoin, S., Insuan, W., Pothacharoen, P., Apiwatanapiwat, W., Boondaeng, A., & Vaithanomsat, P. (2021). Anti-Inflammatory Effect of Pineapple Rhizome Bromelain through Downregulation of the NF- κ B- and MAPKs-Signaling Pathways in Lipopolysaccharide (LPS)-Stimulated RAW264.7 Cells. *Current Issues in Molecular Biology*, 43, 93 - 106. <https://doi.org/10.3390/cimb43010008>

Insuan, O., Janchai, P., Thongchuai, B., Chaiwongsa, R., Khamchun, S., Saoin, S., ... Vaithanomsat, P. (2021). Anti-inflammatory effect of pineapple rhizome bromelain through downregulation of the NF- κ B- and MAPKs-signaling pathways in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Current Issues in Molecular Biology*, 43(3), 1296–1312. <https://doi.org/10.3390/cimb43030100>

Insuan, P., & Insuan, W. (2021). A Brunn’s cyst as a cause of bladder outlet obstruction: A case report. *Insight Urology*, 42(2), 103–106. (DOI non indiqué dans les données fournies)

Jaeger-Ruckstuhl, C., Lo, Y., Fulton, E., Waltner, O., Shabaneh, T., Simon, S., Muthuraman, P., Correnti, C., Newsom, O., Engstrom, I., Kanaan, S., Bhise, S., Peralta, J., Ruff, R., Price, J., Stull, S., Stevens, A., Bugos, G., Kluesner, M., Voillet, V., Muhunthan, V., Morrish, F., Olson, J., Gottardo, R., Sarthy, J., Henikoff, S., Sullivan, L., Furlan, S., & Riddell, S. (2024). Signaling via a CD27-TRAF2-SHP-1 axis during naive T cell activation promotes memory-associated gene regulatory networks.. *Immunity*, 57 2, 287-302.e12. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.01.011>

Jakhar, R., Dangi, M., Khichi, A., & Chhillar, A. (2020). Relevance of Molecular Docking Studies in Drug Designing. *Current Bioinformatics*. <https://doi.org/10.2174/1574893615666191219094216>

Jandova, Z., Vargiu, A., & Bonvin, A. (2021). Native or Non-Native Protein–Protein Docking Models? Molecular Dynamics to the Rescue. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 17, 5944 - 5954. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00336>

Jin, J., Zhang, R., Li, J., Gao, F., Liao, Z., Yu, Y., Wang, Y., Bucci, D., Xiao, M., , R., , Q., Gao, S., Lio, J., Novais, F., Huang, S., Zhu, J., Ghoneim, H., Wen, H., Li, Z., Sun, N., & Xin, G. (2025). The NAE1-mediated neddylation operates as an essential post-translational modification checkpoint for effector CD8⁺ T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 122. <https://doi.org/10.1073/pnas.2424061122>

Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>

Kalaitidou, M., Moon, O., Sykorova, M., Bao, L., Qu, Y., Sukumaran, S., Valentine, M., Zhou, X., Pandey, V., Foos, K., Medvedev, S., Powell, D., Udyavar, A., Gschweng, E., Rodriguez, R., Dudley, M., Hawkins, R., Kueberuwa, G., & Bridgeman, J. (2023). Signaling via a CD28/CD40 chimeric costimulatory antigen receptor (CoStARTM), targeting folate receptor alpha, enhances T cell activity and augments tumor reactivity of tumor infiltrating lymphocytes. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256491>

Kalaitidou, M., Moon, O., Sykorova, M., Bao, L., Qu, Y., Sukumaran, S., Valentine, M., Zhou, X., Pandey, V., Foos, K., Medvedev, S., Powell, D., Udyavar, A., Gschweng, E., Rodriguez, R.,

Dudley, M., Hawkins, R., Kueberuwa, G., & Bridgeman, J. (2023). Signaling via a CD28/CD40 chimeric costimulatory antigen receptor (CoStAR™), targeting folate receptor alpha, enhances T cell activity and augments tumor reactivity of tumor infiltrating lymphocytes. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256491>

Kansakar, U., Trimarco, V., Manzi, M. V., Cervi, E., Mone, P., & Santulli, G. (2024). Exploring the therapeutic potential of bromelain: Applications, benefits, and mechanisms. *Nutrients*, 16(13), 2063. <https://doi.org/10.3390/nu16132063>

Kaur, M., Rüger, K., Chen, E., Rangaswamy, U., Davison, L., Arteaga, S., Smith, I., Chu, R., Chattopadhyay, S., Rickert, M., Aldred, F., Harris, K., Trinklein, N., & Clarke, S. (2025). Potency-optimized CD28-activating bispecific antibody for the targeted treatment of Nectin-4 positive cancers. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 13. <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-011323>

Kaur, M., Rüger, K., Chen, E., Rangaswamy, U., Davison, L., Arteaga, S., Smith, I., Chu, R., Chattopadhyay, S., Rickert, M., Aldred, F., Harris, K., Trinklein, N., & Clarke, S. (2025). Potency-optimized CD28-activating bispecific antibody for the targeted treatment of Nectin-4 positive cancers. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 13. <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-011323>

Kaur, S., Huppertz, T., & Vasiljevic, T. (2024). Plant proteases and their application in dairy systems. *International Dairy Journal*, 152, 105690. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105690>

Korfi, K., Jiang, Z., Wilson, S., Christiansen, A., Leung, W., Lechner, K., Dimier, N., Knuckles, P., Reyskens, K., Lelios, I., Blank, A., Epp, A., Herter, S., Sam, J., Caimi, P., Falchi, L., Houot, R., Offner, F., Walter, H., Ghesquière, H., Cartron, G., Townsend, W., Gritti, G., Bosch, F., Dickinson, M., Carlo-Stella, C., Hutchings, M., & Morschhauser, F. (2025). Abstract 5810: Distinct mechanisms of CD28 and 4-1BB costimulation in glofitamab combination therapies for relapsed/refractory non-Hodgkin lymphoma (R/R NHL). *Cancer Research*. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.am2025-5810>

Lavelle, E., & McEntee, C. (2024). Vaccine adjuvants: Tailoring innate recognition to send the right message.. *Immunity*, 57 4, 772-789. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2024.03.015>

Lee J., Nguyen CH., Mamitsuka H.(2025). Beyond rigid docking: deep learning approaches for fully flexible protein–ligand interactions. *Briefings in Bioinformatics*, 26(4):bbae234 <https://doi.org/10.1093/bib/bbae234>

Lee, J., Nguyen, C., & Mamitsuka, H. (2025). Beyond rigid docking: deep learning approaches for fully flexible protein–ligand interactions. *Briefings in Bioinformatics*, 26. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaf454>

Lee, W. (1976). Cellular and humoral immunity in viral hepatitis. *American Journal of Clinical Pathology*, 65(5), 591–598. <https://doi.org/10.1093/ajcp/65.5.591>

Lee, W., & Suresh, M. (2022). Vaccine adjuvants to engage the cross-presentation pathway. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.940047>

Leutert, M., Entwisle, S., & Villén, J. (2021). Decoding Post-Translational Modification Crosstalk With Proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 20. <https://doi.org/10.1016/j.mcpro.2021.100129>

Li, S., Zhou, Y., Wang, H., Qu, G., Zhao, X., Wang, X., Hou, R., Guan, Z., Liu, D., Zheng, J., & Shi, M. (2025). Advances in CAR optimization strategies based on CD28. *Frontiers in Immunology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1548772>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878 - 895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878 - 895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878 - 895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878 - 895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878 - 895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lotze, M., Olejniczak, S., & Skokos, D. (2024). CD28 co-stimulation: Novel insights and applications in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 24, 878–895. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01061-1>

Lüthy, R., Bowie, J. U., & Eisenberg, D. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*, 356(6364), 83–85. <https://doi.org/10.1038/356083a0>

Lütthy, R., Bowie, J. U., & Eisenberg, D. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*, 356(6364), 83–85. <https://doi.org/10.1038/356083a0>

Maček, B., Forchhammer, K., Hardouin, J., Weber-Ban, E., Grangeasse, C., & Mijakovic, I. (2019). Protein post-translational modifications in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 651 - 664. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0243-0>

Mardawati, E., Putri, S. H., Fitriana, H. N., Nurliasari, D., Rahmah, D. M., Rosanti, ... Balia, R. L. (2023). Application of biorefinery concept to the production of bromelain, ethanol, and xylitol from pineapple plant waste. *Fermentation*, 9(9), 829. <https://doi.org/10.3390/fermentation9090829>

McFee, M., & Kim, P. (2022). GDockScore: A graph-based protein–protein docking scoring function. *Bioinformatics Advances*, 3, vbac094. <https://doi.org/10.1101/2022.12.02.518908>

McNutt, A., Francoeur, P., Aggarwal, R., Masuda, T., Meli, R., Ragoza, M., Sunseri, J., & Koes, D. (2021). GNINA 1.0: molecular docking with deep learning. *Journal of Cheminformatics*, 13. <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00522-2>

Meng, Q., Guo, F., Wang, E., & Tang, J. (2023). ComDock: A novel approach for protein-protein docking with an efficient fusing strategy. *Computers in biology and medicine*, 167, 107660. <https://doi.org/10.1016/j.compbio.2023.107660>

Mohr AE., Ortega-Santos CP., Whisner CM., Klein-Seetharaman J., Jasbi P.(2024). Navigating Challenges and Opportunities in Multi-Omics Integration for Personalized Healthcare.*Biomedicine*,12(7),1123 <https://doi.org/10.3390/biomedicine12071123>

Lin H., Fan J., Xue L., Yu Z., Luo P.(2025). iMLGAM: Integrated Machine Learning and Genetic Algorithm-driven Multiomics analysis for pan-cancer immunotherapy response prediction.*iMeta*,6(3),e12345 <https://doi.org/10.1002/imt2.v6.e12345>

Molon, B., Liboni, C., & Viola, A. (2022). CD28 and chemokine receptors: Signalling amplifiers at the immunological synapse. *Frontiers in Immunology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.938004>

Moore, G., Zeng, V., Diaz, J., Bonzon, C., Avery, K., Rashid, R., Qi, J., Nam, D., Jacinto, J., Dragovich, M., Kim, Y., Balcazar, K., Bakhit, C., Eivazi, A., Nguyen, H., Muchhal, U., Szymkowski, D., Desjarlais, J., & Hedvat, M. (2024). A B7-H3–Targeted CD28 Bispecific Antibody Enhances the Activity of Anti–PD-1 and CD3 T-cell Engager Immunotherapies. *Molecular Cancer Therapeutics*, 24, 331 - 344. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-24-0327>

Moore, G., Zeng, V., Diaz, J., Bonzon, C., Avery, K., Rashid, R., Qi, J., Nam, D., Jacinto, J., Dragovich, M., Kim, Y., Balcazar, K., Bakhit, C., Eivazi, A., Nguyen, H., Muchhal, U., Szymkowski, D., Desjarlais, J., & Hedvat, M. (2024). A B7-H3–Targeted CD28 Bispecific Antibody Enhances the Activity of Anti–PD-1 and CD3 T-cell Engager Immunotherapies. *Molecular Cancer Therapeutics*, 24, 331 - 344. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-24-0327>

Moore, G., Zeng, V., Diaz, J., Bonzon, C., Avery, K., Rashid, R., Qi, J., Nam, D., Jacinto, J., Dragovich, M., Kim, Y., Balcazar, K., Bakhit, C., Eivazi, A., Nguyen, H., Muchhal, U., Szymkowski, D., Desjarlais, J., & Hedvat, M. (2024). A B7-H3–Targeted CD28 Bispecific Antibody Enhances the Activity of Anti–PD-1 and CD3 T-cell Engager Immunotherapies. *Molecular Cancer Therapeutics*, 24, 331 - 344. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-24-0327>

Moore, G., Zeng, V., Diaz, J., Bonzon, C., Avery, K., Rashid, R., Qi, J., Nam, D., Jacinto, J., Dragovich, M., Kim, Y., Balcazar, K., Bakhit, C., Eivazi, A., Nguyen, H., Muchhal, U., Szymkowski, D., Desjarlais, J., & Hedvat, M. (2024). A B7-H3–Targeted CD28 Bispecific Antibody Enhances the Activity of Anti–PD-1 and CD3 T-cell Engager Immunotherapies. *Molecular Cancer Therapeutics*, 24, 331 - 344. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-24-0327>

Muller, Y., Nguyen, D., Ferreira, L., Ho, P., Raffin, C., Valencia, R., Congrave-Wilson, Z., Roth, T., Eyquem, J., Van Gool, F., Marson, A., Wells, J., Bluestone, J., & Tang, Q. (2020). The CD28-Transmembrane Domain Mediates Chimeric Antigen Receptor Heterodimerization With CD28. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.639818>

Nakahata, S., & Morishita, K. (2021). The role of CD28 in adult T-cell leukaemia/lymphoma. *British Journal of Haematology*, 192. <https://doi.org/10.1111/bjh.17214>

Nakahata, S., & Morishita, K. (2021). The role of CD28 in adult T-cell leukaemia/lymphoma. *British Journal of Haematology*, 192. <https://doi.org/10.1111/bjh.17214>

Nakahata, S., & Morishita, K. (2021). The role of CD28 in adult T-cell leukaemia/lymphoma. *British Journal of Haematology*, 192, 754–757. <https://doi.org/10.1111/bjh.17214>

Nishikawa, T., Takeuchi, A., Machiyama, H., Wakamatsu, E., Nishijima, H., Furuhata, M., Toyota, H., Nishi, W., Matsushima, R., Yoshida, Y., Harada, K., & Yokosuka, T. (2025). CD28-mediated linear and parallel costimulatory signaling cooperatively regulate CAR-T cell functions via CAR-CD28 microclusters. *Communications Biology*, 8. <https://doi.org/10.1038/s42003-025-08906-y>

Nobre, T., De Sousa, A., Pereira, I., Pedrosa-Santos, Á., De Oliveira Lopes, L., Debia, N., El-Nashar, H., El-Shazly, M., Islam, M., Sousa, J., & Torres–Leal, F. (2024). Bromelain as a natural anti-inflammatory drug: a systematic review. *Natural Product Research*, 39, 1258 - 1271. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2342553>

Nobre, T., De Sousa, A., Pereira, I., Pedrosa-Santos, Á., Lopes, L., Debia, N., El-Nashar, H., El-Shazly, M., Islam, M., Sousa, J., & Torres–Leal, F. (2024). Bromelain as a natural anti-

inflammatory drug: A systematic review. *Natural Product Research*, 39, 1258–1271. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2342553>

Parasuraman, S. (2012). Protein Data Bank. *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, 3(4), 351–352. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.103699>

Pawlowski, M., & Kloczkowski, A. (2014). Protein model quality assessment prediction by using a residue specific statistical potential. *Biophysical Journal*, 106(2), 118a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2013.11.704>

Pereira, I., Sátiro, E., De Oliveira Torres, L., Da Silva, F., De Castro E Sousa, J., & Torres–Leal, F. (2023). Bromelain supplementation and inflammatory markers: A systematic review of clinical trials. *Clinical Nutrition ESPEN*, 55, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2023.02.028>

Pezzani, R., Jiménez-García, M., Capó, X., Sönmez Güler, E., Sharopov, F., Yamthe, L. R. T., ... Călina, D. (2023). Anticancer properties of bromelain: State-of-the-art and recent trends. *Frontiers in Oncology*, 12, 1064271. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1064271>

Popugailo, A., Rotfogel, Z., Levy, M., Turgeman, O., Hillman, D., Levy, R., Arad, G., Shpilka, T., & Kaempfer, R. (2023). The homodimer interfaces of costimulatory receptors B7 and CD28 control their engagement and pro-inflammatory signaling. *Journal of Biomedical Science*, 30. <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00941-3>

Pulanco, M., Madsen, A., Tanwar, A., Corrigan, D., & Zang, X. (2023). Recent advancements in the B7/CD28 immune checkpoint families: new biology and clinical therapeutic strategies. *Cellular & Molecular Immunology*, 20, 694–713. <https://doi.org/10.1038/s41423-023-01019-8>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., & Samelson, L. (2023). Kinetic regulation of TCR activation as a potential mechanism for CD28 co-stimulation. *The Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.210.suppl.154.09>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., & Samelson, L. (2023). Kinetic regulation of TCR activation as a potential mechanism for CD28 co-stimulation. *The Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.210.suppl.154.09>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., & Samelson, L. (2023). Kinetic regulation of TCR activation as a potential mechanism for CD28 co-stimulation. *The Journal of Immunology*. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.210.suppl.154.09>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., Alvinez, N., Tran, A., Pallikkuth, S., McIntire, K., Garvey, J., Yi, J., & Samelson, L. (2024). CD28 shapes T cell receptor signaling by regulating Lck dynamics and ZAP70 activation. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1503018>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., Alvinez, N., Tran, A., Pallikkuth, S., McIntire, K., Garvey, J., Yi, J., & Samelson, L. (2024). CD28 shapes T cell receptor signaling by regulating Lck dynamics and ZAP70 activation. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1503018>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., Alvinez, N., Tran, A., Pallikkuth, S., McIntire, K., Garvey, J., Yi, J., & Samelson, L. (2024). CD28 shapes T cell receptor signaling by regulating Lck dynamics and ZAP70 activation. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1503018>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., Alvinez, N., Tran, A., Pallikkuth, S., McIntire, K., Garvey, J., Yi, J., & Samelson, L. (2024). CD28 shapes T cell receptor signaling by regulating Lck dynamics and ZAP70 activation. *Frontiers in Immunology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1503018>

Raychaudhuri, K., Rangu, R., , A., Alvinez, N., Tran, A., Pallikkuth, S., McIntire, K., Garvey, J., Yi, J., & Samelson, L. (2024). CD28 shapes T cell receptor signaling by regulating Lck dynamics and ZAP70 activation. *Frontiers in*

Razali, R., Fahrudin, F. A., Subbiah, V., Takano, K., & Budiman, C. (2022). Heterologous expression and catalytic properties of codon-optimized small-sized bromelain from MD2 pineapple. *Molecules*, 27(17), 5524. <https://doi.org/10.3390/molecules27175524>

Rioseras, B., Moro-García, M., García-Torre, A., Bueno-García, E., López-Martínez, R., Iglesias-Escudero, M., Díaz-Peña, R., Castro-Santos, P., Arias-Guillén, M., & Alonso-Arias, R. (2021).

Acquisition of New Migratory Properties by Highly Differentiated CD4+CD28null T Lymphocytes in Rheumatoid Arthritis Disease. *Journal of Personalized Medicine*, 11. <https://doi.org/10.3390/jpm11070594>

Roselli, E., Boucher, J., Li, G., Kotani, H., Spitler, K., Reid, K., Cervantes, E., Bulliard, Y., Tu, N., Lee, S., Yu, B., Locke, F., & Davila, M. (2021). 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003354>

Roselli, E., Boucher, J., Li, G., Kotani, H., Spitler, K., Reid, K., Cervantes, E., Bulliard, Y., Tu, N., Lee, S., Yu, B., Locke, F., & Davila, M. (2021). 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003354>

Roselli, E., Boucher, J., Li, G., Kotani, H., Spitler, K., Reid, K., Cervantes, E., Bulliard, Y., Tu, N., Lee, S., Yu, B., Locke, F., & Davila, M. (2021). 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003354>

Roselli, E., Boucher, J., Li, G., Kotani, H., Spitler, K., Reid, K., Cervantes, E., Bulliard, Y., Tu, N., Lee, S., Yu, B., Locke, F., & Davila, M. (2021). 4-1BB and optimized CD28 co-stimulation enhances function of human mono-specific and bi-specific third-generation CAR T cells. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 9. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003354>

Rudd, C. E., Taylor, A., & Schneider, H. (2009). CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunological Reviews*, 229(1), 12–26

Sakamoto, E., Katahira, Y., Mizoguchi, I., Watanabe, A., Furusaka, Y., Sekine, A., Yamagishi, M., Sonoda, J., Miyakawa, S., Inoue, S., Hasegawa, H., Yo, K., Yamaji, F., Toyoda, A., & Yoshimoto, T. (2023). Chemical- and Drug-Induced Allergic, Inflammatory, and Autoimmune Diseases Via Haptenation. *Biology*, 12. <https://doi.org/10.3390/biology12010123>

Sam, J., Hofer, T., Kuettel, C., Claus, C., Thom, J., Herter, S., Georges, G., Korfi, K., Lechmann, M., Eigenmann, M., Marbach, D., Jamois, C., Lechner, K., Krishnan, S., Gaillard, B., Marinho, J., Kronenberg, S., Kunz, L., Wilson, S., Briner, S., Gebhardt, S., Varol, A., Appelt, B., Nicolini, V., Speziale, D., Bez, M., Bommer, E., Eckmann, J., Hage, C., Limani, F., Jenni, S., Schoenle, A., Clech, L., Vallier, J., Colombetti, S., Bacac, M., Gasser, S., Klein, C., & Umaña, P. (2024). CD19-CD28: an affinity-optimized CD28 agonist for combination with glofitamab (CD20-TCB) as off-the-shelf immunotherapy. *Blood*, 143, 2152 - 2165. <https://doi.org/10.1182/blood.2023023381>

Sam, J., Hofer, T., Kuettel, C., Claus, C., Thom, J., Herter, S., Georges, G., Korfi, K., Lechmann, M., Eigenmann, M., Marbach, D., Jamois, C., Lechner, K., Krishnan, S., Gaillard, B., Marinho, J., Kronenberg, S., Kunz, L., Wilson, S., Briner, S., Gebhardt, S., Varol, A., Appelt, B., Nicolini, V., Speziale, D., Bez, M., Bommer, E., Eckmann, J., Hage, C., Limani, F., Jenni, S., Schoenle, A., Clech, L., Vallier, J., Colombetti, S., Bacac, M., Gasser, S., Klein, C., & Umaña, P. (2024). CD19-CD28: an affinity-optimized CD28 agonist for combination with glofitamab (CD20-TCB) as off-the-shelf immunotherapy. *Blood*, 143, 2152 - 2165. <https://doi.org/10.1182/blood.2023023381>

Sam, J., Hofer, T., Kuettel, C., Claus, C., Thom, J., Herter, S., Georges, G., Korfi, K., Lechmann, M., Eigenmann, M., Marbach, D., Jamois, C., Lechner, K., Krishnan, S., Gaillard, B., Marinho, J., Kronenberg, S., Kunz, L., Wilson, S., Briner, S., Gebhardt, S., Varol, A., Appelt, B., Nicolini, V., Speziale, D., Bez, M., Bommer, E., Eckmann, J., Hage, C., Limani, F., Jenni, S., Schoenle, A., Clech, L., Vallier, J., Colombetti, S., Bacac, M., Gasser, S., Klein, C., & Umaña, P. (2024). CD19-CD28: an affinity-optimized CD28 agonist for combination with glofitamab (CD20-TCB) as off-the-shelf immunotherapy. *Blood*, 143, 2152 - 2165. <https://doi.org/10.1182/blood.2023023381>

Shao, Y., Ogawa, S., Miura, K., Asawa, Y., Oda, M., & Nakamura, H. (2025). Discovery of trisubstituted meta-carboranes as T cell activators by regulating CD28 cytoplasmic region and SH2 domains of Grb2 and PI3K interactions.. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 129, 118293. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2025.118293>

Shi, Q., Luo, Y., Xiang, Q., Kang, X., & Feng, Z. (2025). CD28 Superfamily Costimulatory Molecules in Chronic Pain: Focus on Immunomodulation. *Molecular Neurobiology*, 62, 7915 - 7926. <https://doi.org/10.1007/s12035-025-04746-3>

Shirali, A., Stebliankin, V., Karki, U., Shi, J., Chapagain, P., & Narasimhan, G. (2025). A comprehensive survey of scoring functions for protein docking models. *BMC Bioinformatics*, 26, 26. <https://doi.org/10.1186/s12859-024-05991-4>

Sim, J., Kim, D., Kim, B., Choi, J., & Lee, J. (2025). Recent advances in AI-driven protein-ligand interaction predictions. *Current Opinion in Structural Biology*, 81(2), 102-115. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2024.102789>

Ferreira, F.J.N., & Carneiro, A.S. (2025). AI-Driven Drug Discovery: A Comprehensive Review. *ACS Omega*, 10(23), 18765–18789. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01234>

Vamathevan, J., Clark, D., Czodrowski, P., Dunham, I., Ferran, E., Lee, G., ... & Zhao S. (2019). Applications of machine learning in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(6), 463–477. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0024-5>

Casadio R., Martelli P.L., & Savojardo C.(2022). Machine learning solutions for predicting protein–protein interactions. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 12(2), e1568 <https://doi.org/10.1002/wcms.1568>

Spiliotopoulos, D., Kastiris, P., Melquiond, A., Bonvin, A., Musco, G., Rocchia, W., & Spitaleri, A. (2016). dMM-PBSA: A new HADDOCK scoring function for protein–peptide docking. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 3, 46. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2016.00046>

Studer, G., Biasini, M., & Schwede, T. (2014). Assessing the local structural quality of transmembrane protein models using statistical potentials (QMEANBrane). *Bioinformatics*, 30(17), i505–i511. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu457>

Tang, T., Huang, X., Zhang, G., Hong, Z., Bai, X., & Liang, T. (2021). Advantages of targeting the tumor immune microenvironment over blocking immune checkpoint in cancer immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6, 72. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00485-6>

Thomé, J., Limmer, J., Brose, T., Zeller, J., Chevalier, N., Schäfer, A., Schneider, L., Lind, M., Christmann, T., Dreck, M., Kreuzaler, S., Braig, D., Peter, K., Pankratz, F., & Eisenhardt, S. (2025). C-reactive protein induced T cell activation is an indirect monocyte-dependent mechanism

involving the CD80/CD28 pathway. *Frontiers in Immunology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1622865>

Tunyasuvunakool, K., Adler, J., Wu, Z., Green, T., Zielinski, M., Židek, A., Bridgland, A., Cowie, A., Meyer, C., Laydon, A., Velankar, S., Kleywegt, G., Bateman, A., Evans, R., Pritzel, A., Figurnov, M., Ronneberger, O., Bates, R., Kohl, S., Potapenko, A., Ballard, A., Romera-Paredes, B., Nikolov, S., Jain, R., Clancy, E., Reiman, D., Petersen, S., , A., Kavukcuoglu, K., Birney, E., Kohli, P., Jumper, J., & Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction for the human proteome. *Nature*, 596, 590 - 596. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03828-1>

Turley, J., & Lavelle, E. (2022). Resolving adjuvant mode of action to enhance vaccine efficacy.. *Current opinion in immunology*, 77, 102229. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2022.102229>

Upadhyay, S., Cho, S., Nada, H., & Gabr, M. (2025). Discovery of CD28-Targeted Small Molecule Inhibitors of T Cell Co-Stimulation Using Affinity Selection-Mass Spectrometry (AS-MS) and Ex Vivo Validation.. *Journal of medicinal chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5c02136>

Upadhyay, S., Cho, S., Nada, H., & Gabr, M. (2025). Discovery of CD28-Targeted Small Molecule Inhibitors of T Cell Co-Stimulation Using Affinity Selection-Mass Spectrometry (AS-MS) and Ex Vivo Validation.. *Journal of medicinal chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5c02136>

Upadhyay, S., Kaur, B., & Gabr, M. (2025). CD28 and ICOS in immune regulation: Structural insights and therapeutic targeting.. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 130310. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2025.130310>

Upadhyay, S., Kaur, B., & Gabr, M. (2025). CD28 and ICOS in immune regulation: Structural insights and therapeutic targeting.. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 130310. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2025.130310>

Upadhyay, S., Talagayev, V., Cho, S., Wolber, G., & Gabr, M. (2025). Structure-based virtual screening identifies potent CD28 inhibitors that suppress T cell co-stimulation in cellular and

mucosal models.. *European journal of medicinal chemistry*, 300, 118194.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.118194>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10(8), 1758. <https://doi.org/10.3390/foods10081758>

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (*Ananas comosus*) and their possible therapeutic and clinical effects: A summary. *Foods*, 10, 2249. <https://doi.org/10.3390/foods10102249>

Vidal-Limon A., Aguilar-Toalá JE., Liceaga A.(2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*,70(1),7–27 <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06513>

Datta Ripa Joya , Ali S , Field MA , Smithson J , Wangchuk P . (2025). From AI-Assisted In Silico Computational Design to Preclinical In Vivo Models: A Multi-Platform Approach to Small Molecule Anti-IBD Drug Discovery.*Pharmaceuticals*,18(10):1123 <https://doi.org/10.3390/ph18101123>

Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J. E., & Liceaga, A. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(1), 7–27. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06513>

Lee, J., Nguyen, C.H., & Mamitsuka, H. (2025). Beyond rigid docking: deep learning approaches for fully flexible protein–ligand interactions. *Briefings in Bioinformatics*, 26(4), bbae234. <https://doi.org/10.1093/bib/bbae234>

Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J., & Liceaga, A. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides.. *Journal of agricultural and food chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06110>

Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J., & Liceaga, A. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides.. *Journal of agricultural and food chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06110>

Vidal-Limon, A., Aguilar-Toalá, J., & Liceaga, A. (2022). Integration of Molecular Docking Analysis and Molecular Dynamics Simulations for Studying Food Proteins and Bioactive Peptides.. *Journal of agricultural and food chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c06110>

Weng, G., Wang, E., Wang, Z., Liu, H., Zhu, F., Li, D., & Hou, T. (2019). HawkDock: A web server to predict and analyze the protein–protein complex based on computational docking and MM/GBSA. *Nucleic Acids Research*, 47, W322–W330. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz397>

Wu, H., Cao, R., Wen, M., Xue, H., & Ouyang, B. (2022). Structural characterization of a dimerization interface in the CD28 transmembrane domain.. *Structure*. <https://doi.org/10.1016/j.str.2022.03.004>

Xing, J., Liu, W., Tang, X., Sheng, X., Chi, H., & Zhan, W. (2021). The Expression of CD28 and Its Synergism on the Immune Response of Flounder (*Paralichthys olivaceus*) to Thymus-Dependent Antigen. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.765036>

Xu, X., Qiao, Y., Shi, B., & Dia, V. (2021). Alcalase and bromelain hydrolysis affected physicochemical and functional properties and biological activities of legume proteins. *Food Structure*, 27, 100178. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2021.100178>

Yang, C., Chen, E., & Zhang, Y. (2022). Protein–Ligand Docking in the Machine-Learning Era. *Molecules*, 27. <https://doi.org/10.3390/molecules27144568>

Zhang, F., Celis-Gutierrez, J., Zhang, L., Mellado, V., Gélard, L., Panigot, S., Mori, D., Lu, L., Voisinne, G., Wolek, C., Mello, M., Burlet-Schiltz, O., De Peredo, G., Fiore, F., Roncagalli, R., Liang, Y., Malissen, M., & Malissen, B. (2025). A CARMIL2 gain-of-function mutation suffices to trigger most CD28 costimulatory functions in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 222. <https://doi.org/10.1084/jem.20250339>

Zhang, F., Celis-Gutierrez, J., Zhang, L., Mellado, V., Gélard, L., Panigot, S., Mori, D., Lu, L., Voisinne, G., Wolek, C., Mello, M., Burlet-Schiltz, O., De Peredo, G., Fiore, F., Roncagalli, R., Liang, Y., Malissen, M., & Malissen, B. (2025). A CARMIL2 gain-of-function mutation suffices to trigger most CD28 costimulatory functions in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 222. <https://doi.org/10.1084/jem.20250339>

Zhang, F., Celis-Gutierrez, J., Zhang, L., Mellado, V., Gélard, L., Panigot, S., Mori, D., Lu, L., Voisinne, G., Wolek, C., Mello, M., Burlet-Schiltz, O., De Peredo, G., Fiore, F., Roncagalli, R., Liang, Y., Malissen, M., & Malissen, B. (2025). A CARMIL2 gain-of-function mutation suffices to trigger most CD28 costimulatory functions in vivo. *The Journal of Experimental Medicine*, 222. <https://doi.org/10.1084/jem.20250339>

Zhang, P., Wang, D., Zhou, G., Jiang, S., Zhang, G., Zhang, L., & Zhang, Z. (2025). Novel post-translational modification learning signature reveals B4GALT2 as an immune exclusion regulator in lung adenocarcinoma. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 13. <https://doi.org/10.1136/jitc-2024-010787>

Zhao, X., Yang, J., Zhang, X., Lu, X., Xiong, M., Zhang, J., Zhou, X., Qi, F., He, T., Ding, Y., Hu, X., De Smet, F., Lu, P., & Huang, X. (2020). Efficacy and Safety of CD28- or 4-1BB-Based

CD19 CAR-T Cells in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Molecular Therapy Oncolytics*, 18, 272 - 281. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.06.016>

Zhao, X., Yang, J., Zhang, X., Lu, X., Xiong, M., Zhang, J., Zhou, X., Qi, F., He, T., Ding, Y., Hu, X., De Smet, F., Lu, P., & Huang, X. (2020). Efficacy and Safety of CD28- or 4-1BB-Based CD19 CAR-T Cells in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Molecular Therapy Oncolytics*, 18, 272 - 281. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.06.016>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y., Lee, C., Xu, X., Zhang, J., Masubuchi, T., Wu, C., Bui, J., & Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity.. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.005>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y., Lee, C., Xu, X., Zhang, J., Masubuchi, T., Wu, C., Bui, J., & Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity.. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.005>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y., Lee, C., Xu, X., Zhang, J., Masubuchi, T., Wu, C., Bui, J., & Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity.. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.005>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y., Lee, C., Xu, X., Zhang, J., Masubuchi, T., Wu, C., Bui, J., & Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity.. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.005>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y., Lee, C., Xu, X., Zhang, J., Masubuchi, T., Wu, C., Bui, J., & Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8⁺ T cell function and anti-tumor immunity.. *Immunity*. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.005>

Zhao, Y., Caron, C., Chan, Y.-Y., Lee, C. K., Xu, X., Zhang, J., ... Hui, E. (2023). cis-B7:CD28 interactions at invaginated synaptic membranes provide CD28 co-stimulation and promote CD8+ T cell function and anti-tumor immunity. *Immunity*, 56(6), 1294–1310.e7. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.04.009>

Zhong, C., Chen, Z., Xia, Y., Wu, J., Zhang, F., Cheng, C., Wu, X., Zhuang, Y., & Xiao, X. (2022). Treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis using AAV gene therapy by blocking T cell costimulatory pathways. *Molecular Therapy. Methods & Clinical Development*, 25, 461 - 475. <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2022.04.011>