

# VU Research Portal

## Orchestrating the immune system to initiate adaptive anti-tumor immunity

Schetters, S.T.T.

2020

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

### **citation for published version (APA)**

Schetters, S. T. T. (2020). *Orchestrating the immune system to initiate adaptive anti-tumor immunity*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

### **E-mail address:**

[vuresearchportal.ub@vu.nl](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

## **Chapter 15**

### **Appendix**

**Thesis summary**  
**Nederlandse samenvatting**  
**Curriculum Vitae**  
**List of publications**  
**Acknowledgements**

## Thesis Summary

Our immune system has evolved to protect ourselves from threats and harm from both outside (pathogens like bacteria) and inside (damaged cells or tumors). The innate immune system is able to respond quickly to predefined pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), while the adaptive immune system can be taught to respond to a specific part (antigen) of a pathogen. While arisen in separate events during evolution, the innate and adaptive immune system function in a highly coordinated fashion to ensure an immune response specifically tailored in both space and time when pathogens are encountered. Teaching of the adaptive immune response by the innate immune system also enables quicker response times upon a second encounter of the same antigen, leading to long term protective immunity. Understanding the principles of protective immunity and the underlying innate-adaptive immunity crosstalk may guide rational approaches to vaccine design. Currently, successful vaccines are based on the generation of protective antibodies directed against pathogens, also known as humoral immunity. However, vaccines aimed at generating antigen-specific T lymphocytes to combat viral infections or tumors (cellular immunity) are notoriously difficult to develop. In Part I of this thesis we focus on vaccine compounds that are hypothesized to enhance T cell mediated adaptive immune responses. Using *in vitro* co-culture systems of dendritic cells and TCR-specified T cells, as well as *in vivo* immunization strategies, we test the ability of our novel compounds and vaccination strategies to induce antigen-specific T cell responses. In Part II we explore the modes of immune suppression employed by tumor cells that impede adaptive anti-tumor immune responses.

We hypothesized that in order to rationally formulate vaccine compounds with the capacity to induce adaptive immune responses, the interplay of innate and adaptive immune cells needed to be investigated. In this thesis we explored several vaccine compounds in their ability to induce innate immune activation and antigen-specific T lymphocyte responses. In Chapter 2, we describe the use of outer membrane vesicles (OMVs), derived from genetically engineered bacteria, as PAMP-rich immunogenic vaccine compound. OMVs induced MyD88-dependent dendritic cell activation, antigen processing and antigen presentation to CD8<sup>+</sup> T cells. A different bacterial component (inclusion bodies; IBs) was explored in Chapter 3, showing high potential of antigen presentation to CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T cells *in vitro*, although for effective immunization *in vivo*, IBs required additional adjuvants. Protective immunity not only requires innate activation, but also antigen specific to the pathology, preferably delivered to the dendritic cell. In Chapter 5 we report the modification of antigens with a single lipid tail, leading to membrane loading of DCs and potent cross-presentation to CD8<sup>+</sup> T cells. To deliver antigen to the dendritic cell efficiently, DC-specific endocytic receptors can be targeted using antigens attached to receptor-specific antibodies or natural ligands. In Chapter 4, we have investigated the mouse orthologue of the endocytic receptor, DC-SIGN. Mouse DC-SIGN (mDC-SIGN) was shown to exhibit overlapping functionality with its human counterpart, allowing antigen targeting for vaccination purposes. By conjugating a model-antigen to an anti-mDC-SIGN antibody, mDC-SIGN-expressing DCs could be targeted *in vivo* for the initiation of adaptive immune responses. Alternatively, the natural ligand of DC-SIGN, the glycan Lewis Y, can be added to a trimeric antigen (Antigen MAtRiX; AMAX). The resulting glycosylated AMAX allowed the *in vivo* targeting of DC-SIGN in mice expressing the human form of the receptor on dendritic cells (Chapter 7). DC-SIGN is an endocytic receptor expressed by DCs differentiating from the monocytic lineage. We hypothesized that antigen delivery could be enhanced by first recruiting and differentiating monocyte-derived dendritic cells expressing DC-SIGN to the vaccination site before targeting with a DC-SIGN-specific antigen-antibody conjugate. In chapter 6, we describe the recruitment of DC-SIGN<sup>+</sup> monocyte-derived dendritic cells to the skin after sterile adjuvant-induced inflammation. Interestingly, targeting skin-infiltrating moDCs *in situ* using DC-SIGN targeting antibodies led to increases in antigen-specific antibody production and a reduction in antigen-specific CD8<sup>+</sup> T cells. Hence, timing local vaccine site inflammation with the antigen affects adaptive immune responses. Concluding Part I, in Chapter 8 we discuss our findings in light of the evolving science of vaccinology. Additionally, we address the question whether vaccine design can be rationally approached, considering the current gaps in basic knowledge on the generation of

protective immunity. Also, we discuss the position of the public, academic science and pharmaceutical companies in the search and support for successful vaccines. Finally, we explore the motivation of academic scientists and how the development of vaccines fits in this motivational scheme.

In Part II we explore the modes of evolutionary escape that allow tumors to evade immune destruction. Using mouse models of tumorigenesis we investigate what forms of immune suppression exist, where they are employed and how they can be blocked to enhance anti-tumor immunity. First, we examine the innate and adaptive immune response in the tumor microenvironment upon PD1 immune checkpoint blockade (ICB; Chapter 10). We show that during PD1 ICB, monocytes infiltrate the tumor and follow a bimodal differentiate pathway, of which the DC-like path correlates with successful anti-tumor immunity in both mouse models and human melanoma patients. Next, we describe the immune finger print of a mouse model of glioblastoma, the most malignant form of brain tumor (Chapter 11). We show that the immune system is changed in the hemisphere contralateral to the bulk tumor and shows an immune suppressed phenotype. We hypothesize that the tumor cells infiltrating the contralateral hemisphere can be targeted by immune checkpoint blockade due to brain-wide efficacy. In Chapter 12 we switch gears to the field of glycobiology, arguing that changes in glycosylation in the tumor microenvironment mark distinct immune suppressed environments (glyco-code). We anticipate that targeting the specific glyco-code in cancer will bolster the recent efforts to increase anti-tumor immunity. To concretize this train of thought, we describe the glyco-code of pancreatic ductal carcinoma (PDAC) in Chapter 13. Using multi-plex microscopy imaging techniques, we show that the aberrant glycosylation changes (increased sialic acid expression) in PDAC are associated with stromal-derived extracellular matrix. Using a variety of PDAC mouse models, we show that host-derived stromal cells express high levels of sialic acid and are key to the fibrosis that is so characteristic of PDAC. We conclude in Chapter 14 that immunotherapy of cancer should ideally be composed of two components: targeting of convergent phenotypes (shared among patients) and unique immunogenic genotypes (unique to individual patients). A multi-dimensional approach to tumor eradication will drive individualized treatment strategies and eventually long-term survival across the many patients groups.

The research described in this thesis is the accretion of five years of research within the framework of a personal search to understand disease and cure. As most of science, the conclusions made and explanations given will be refuted within my lifetime. However, the data is genuine and is expected to withstand the test of time. Such is the fundamental fate of scientific conduct and the personal motivation to repeatedly venture into uncharted scientific territory, in an arguably romantic search of the unknown.

*If any man is able to convince me and show me that I do not think or act rightly, I will gladly change, for I seek the truth, by which no man was ever injured. But he is injured who abides in his error and ignorance.*  
- Marcus Aurelius -

## Nederlandse samenvatting

Ons immuunsysteem is geëvolueerd om onszelf te beschermen tegen bedreigingen en schade van zowel buiten (pathogenen zoals bacteriën) als van binnen (beschadigde cellen of tumoren). Het aangeboren immuunsysteem is in staat om snel te reageren op vooraf gedefinieerde pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMP's), terwijl het adaptieve immuunsysteem kan worden geleerd te reageren op een specifiek deel (antigeen) van een pathogeen. Hoewel ontstaan in afzonderlijke gebeurtenissen tijdens de evolutie, functioneert het aangeboren en adaptieve immuunsysteem op een sterk gecoördineerde manier om een immuunrespons te garanderen die specifiek is afgestemd in zowel ruimte als tijd, wanneer ziekteverwekkers worden aangetroffen. Het aanleren van de adaptieve immuunrespons door het aangeboren immuunsysteem maakt ook snellere responstijden mogelijk bij een tweede ontmoeting met hetzelfde antigeen, wat leidt tot langdurige immuniteit. Het begrijpen van de principes van beschermende immuniteit en de onderliggende aangeboren-adaptieve immuniteit kan tot rationele benaderingen van vaccinontwerp leiden. Momenteel zijn succesvolle vaccins gebaseerd op het genereren van beschermende antilichamen gericht tegen pathogenen, ook bekend als humorale immuniteit. Vaccins die gericht zijn op het genereren van antigeen-specifieke T-lymfocyten om virale infecties of tumoren (cellulaire immuniteit) te bestrijden, zijn echter notoir moeilijk te ontwikkelen. In Deel I van dit proefschrift richten we ons op vaccinonderdelen waarvan wordt verondersteld dat ze T-cel-gemedieerde adaptieve immuunresponsen verbeteren. Met behulp van *in vitro* kweeksystemen van dendritische cellen en TCR-gespecificeerde T-cellen, evenals *in vivo* immunisatiestrategieën, testen we het vermogen van onze vernieuwende vaccinonderdelen en vaccinatiestrategieën om antigeen-specifieke T-cel responsen te induceren. In Deel II onderzoeken we de wijzen van immuunonderdrukking die worden gebruikt door tumorcellen die adaptieve anti-tumor immuunresponsen belemmeren.

Onze hypothese was dat om rationeel vaccin-componenten te kunnen formuleren met het vermogen om adaptieve immuunresponsen te induceren, dat het samenspel van aangeboren en adaptieve immuuncellen moest worden onderzocht. In dit proefschrift hebben we verschillende vaccin-componenten onderzocht op hun vermogen om aangeboren immuunactivatie en antigeenspecifieke T-lymfocytreacties te induceren. In hoofdstuk 2 beschrijven we het gebruik van buitenmembraanvesicles (OMV's), afgeleid van genetisch gemanipuleerde bacteriën, als PAMP-rijk immunogeen vaccinonderdeel. OMV's inducerden MyD88-afhankelijke dendritische cel (DC) activatie, antigeenverwerking en antigeenpresentatie aan CD8<sup>+</sup> T-cellen. Een andere bacteriële component (Inclusion bodies; IB's) werd onderzocht in hoofdstuk 3, die een hoog potentieel van antigeenpresentatie door DCs aan CD8<sup>+</sup> en CD4<sup>+</sup> T-cellen *in vitro* vertoont, hoewel voor effectieve immunisatie *in vivo* IB's aanvullende adjuvant hulpstoffen vereisten. Beschermende immuniteit vereist niet alleen activatie van het aangeboren, maar ook antigeen specifiek voor de pathogeen, bij voorkeur lokaal afgegeven aan de dendritische cel. In hoofdstuk 5 beschrijven we de modificatie van antigenen met een enkele lipidestaart, wat leidt tot membraanbelasting van DC's en krachtige antigeen presentatie naar CD8<sup>+</sup> T-cellen. Om antigeen efficiënt aan de dendritische cel af te leveren, kunnen DC-specifieke endocytische receptoren worden getarget met behulp van antigenen chemisch gehecht aan receptor-specifieke antilichamen of natuurlijke liganden. In hoofdstuk 4 hebben we de misortholoog van de endocytische receptor, DC-SIGN, onderzocht. Muis DC-SIGN (mDC-SIGN) bleek overlappende functionaliteit te vertonen met zijn menselijke tegenhanger, waardoor antigeen targeting voor vaccinatiedoeleinden mogelijk was. Door conjugatie van een model-antigeen aan een anti-mDC-SIGN-antilichaam, konden mDC-SIGN-positieve DC's *in vivo* worden getarget voor het initiëren van adaptieve immuunresponsen. Als alternatief kan het natuurlijke ligand van DC-SIGN, de glycaan Lewis Y, worden toegevoegd aan een trimeer antigeen (Antigen MATriX; AMAX). De resulterende geglycosyleerde AMAX maakte het *in vivo* targeten van DC-SIGN mogelijk bij muizen die de menselijke vorm van de receptor op dendritische cellen tot expressie brengen (hoofdstuk 7).

DC-SIGN is een endocytische receptor tot expressie gebracht door DC's die differentiëren uit de

monocytaire lijn van immuun cellen. Onze hypothese was dat antigeenafgifte zou kunnen worden verbeterd door eerst monocyt-afgeleide dendritische cellen die DC-SIGN tot expressie brengen naar de vaccinatieplaats te werven en te differentiëren alvorens te targeten met een DC-SIGN-specifiek antigeen-antilichaamconjugaat. In hoofdstuk 6 beschrijven we de rekrutering van DC-SIGN<sup>+</sup> monocyt-afgeleide dendritische cellen naar de huid na steriele adjuvans-geïnduceerde ontsteking. Interessant is dat het richten van huid-infiltrerende moDC's *in situ* met behulp van DC-SIGN-richtende antilichamen tot een toename van antigeen-specifieke antilichaamproductie en een afname van antigeen-specifieke CD8<sup>+</sup> T-cellen leidde. Daarmee beïnvloedde de timing van lokale vaccinatieplaatsontsteking met het antigeen de adaptieve immuunresponsen. Ter afsluiting van deel I bespreken we in hoofdstuk 8 onze bevindingen in het licht van de zich ontwikkelende wetenschap van vaccinologie. Bovendien behandelen we de vraag of vaccinontwerp rationeel kan worden benaderd, gezien de huidige lacunes in basiskennis over het genereren van beschermende immuniteit. Ook bespreken we de positie van de academische wetenschaps- en farmaceutische bedrijven in het zoeken naar en ondersteunen van succesvolle vaccins. Ten slotte belichten we de motivatie van academische wetenschappers en hoe de ontwikkeling van vaccins past in dit motiverende schema.

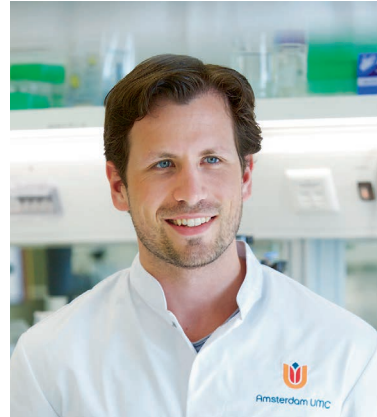
In deel II onderzoeken we de wijzen van evolutionaire ontsnapping waardoor tumoren immuunvernietiging kunnen ontwijken. Met behulp van muis-tumormodellen onderzoeken we welke vormen van immuunsuppressie bestaan, waar ze door de tumor worden misbruikt en hoe ze kunnen worden geblokkeerd om de immuniteit tegen tumoren te verbeteren. Eerst onderzoeken we de aangeboden en adaptieve immuunrespons in de tumor micro-omgeving bij PD1 immuun checkpoint blokkade (ICB; Hoofdstuk 10). We laten zien dat monocytten tijdens PD1 ICB de tumor infiltreren en een bimodaal differentiatiepad volgen, waarvan het DC-achtige pad correleert met succesvolle anti-tumorimmuniteit in zowel muismodellen als menselijke melanoompatiënten. Vervolgens beschrijven we de immuunvingerafdruk van een muismodel van glioblastoom, de meest kwaadaardige vorm van hersentumor (hoofdstuk 11). We laten zien dat het immuunsysteem contralateraal ten opzichte van de buiktumor is veranderd en een immuunonderdrukt fenotype vertoont. Onze hypothese is dat de tumorcellen die de contralaterale hemisfeer infiltreren, het doelwit kunnen zijn van immuunblokkadeblokkering vanwege de hersenbrede werkzaamheid. In hoofdstuk 12 schakelen we over op het veld van glycobioïlogie, met het argument dat veranderingen in glycosylering in de micro-omgeving van de tumor verschillende immuunonderdrukte omgevingen markeren (glyco-code). We verwachten dat het richten op de specifieke glyco-code bij kanker de recente inspanningen zal versterken om de immuniteit tegen tumoren te verhogen. Om deze gedachtegang te concretiseren, beschrijven we de glyco-code van pancreas ductaal carcinoom (PDAC) in hoofdstuk 13. Met behulp van multi-plex microscopie en geavanceerde beeldvormingstechnieken laten we zien dat de afwijkende glycosyleringsveranderingen (verhoogde siaalzuurexpressie) in PDAC worden geassocieerd met stromale afgeleide extracellulaire matrix. Met behulp van verschillende PDAC-muismodellen laten we zien dat van gastheer afkomstige stromale cellen hoge niveaus van siaalzuur tot expressie brengen en de sleutel zijn tot de fibrose die zo kenmerkend is voor PDAC. We concluderen in hoofdstuk 14 dat immunotherapie van kanker idealiter uit twee componenten moet bestaan: targetering van convergente fenotypes (gedeeld tussen patiënten) en unieke immunogene genotypes (uniek voor individuele patiënten). Een multidimensionale benadering van tumoruitroeiing zal individuele behandelingsstrategieën en uiteindelijk langdurige overleving in de vele patiëntengroepen stimuleren.

Het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven, is de aanwas van vijf jaar onderzoek in het kader van onderzoek naar ziekte en genezing. Zoals het merendeel van de wetenschap, zullen de gemaakte conclusies en gegeven verklaringen tijdens mijn leven worden weerlegd. De gegevens zijn echter zuiver en zullen naar verwachting de tand des tijds doorstaan. Dat is het fundamentele lot van wetenschappelijk onderzoek en tevens de persoonlijke motivatie om me herhaaldelijk op onbekend terrein te begeven, in een romantische zoektocht naar het onbekende.



## Curriculum Vitae

Sjoerd Titus Theodorus Schettters was born on December 21, 1987 in London, United Kingdom. He received his Bachelor's degree in Biology at the University of Utrecht in 2011, with a focus on neurobiology, neuropsychology, cell biology and oncology. He wrote his bachelor thesis on "Glioblastoma multiforme: the glioblastoma paradigm". In 2011, he continued his studies with the Master Program in Clinical and Experimental Neuroscience at the University of Utrecht. During this time he interned a full year at the Dutch Brain Institute, Amsterdam under supervision of Prof. Dr. Elly Hol investigating microglia in neurodegenerative diseases. His contributions were later published in *BBA-Molecular Basis of Disease*. Sjoerd continued his studies on microglia in the lab of Prof. Dr. V. Hugh Perry (University of Southampton, UK), under supervision of Dr. Diego Gomez-Nicola. Spearheaded by Dr. Gomez-Nicola, he contributed to two papers as second and shared first author, in *GLIA* and *Brain*, respectively. He finished the Master's Program writing his literature thesis on "NF- $\kappa$ B in brain (cancer) stem cells" under supervision of Dr. Pierre Robe, MD (Utrecht University Medical Center, The Netherlands). Additionally, his hypothesis on the interaction between microglia and T cells was later published in *Frontiers in Immunology* in a collaborative effort with Dr. Gomez-Nicola and Prof. Dr. Yvette van Kooyk. In 2014, Sjoerd received his Master's degree and started his doctoral studies in the lab of Prof. Dr. Yvette van Kooyk (Amsterdam UMC, The Netherlands), with a focus on anti-tumor vaccination. The results of his graduate research efforts are presented in this thesis to acquire the title of Doctor of Philosophy (PhD).



Sjoerd currently works in the research group of Prof. Dr. Bart Lambrecht at the VIB in Ghent, Belgium, focusing on eosinophil heterogeneity and functioning during health and disease.





## List of Publications

1. E. Rodriguez, K. Boelaars, K. Brown, R.J.E. Li, **S.T.T. Schetters**, L.L. Meijer, T.Y.S. Le Large, S.J. van Vliet, G. Kazemier, E. Giovanetti, J.J. Garcia-Vallejo, Y. van Kooyk, Analysis of the glyco-code in pancreatic ductal adenocarcinoma identifies novel immune regulatory (*Nature Communications*, In revision)
  2. **S.T.T. Schetters**, L. Kruijssen, M. Crommentuijn, H. Kalay, J. Den Haan, Y. Van Kooyk, Immunological dynamics in the skin and draining lymph node after subcutaneous immunization with a squalene-based oil-in-water adjuvant (Submitted)
  3. F. Dammeijer, M. van Gulijk, M. Lukkes, M. Van Nimwegen, S.P. Lau, **S.T.T. Schetters**, Y. van Kooyk, L. Boon, Y.M. Mueller, P. Katsikis, H. Vroman, R. Stadhouders, R. Hendriks, T. van Hall, J. Aerts, Selective PD-L1 blockade in the tumor-draining lymph node induces effective anti-tumor T-cell immunity (*Science Translational Medicine*, under review)
  4. **S.T.T. Schetters**, E. Rodriguez, T. Crommentuijn, L. Kruijssen, L. Boon, Y. Van Kooyk, Monocyte-derived APCs are central to the response of PD1 checkpoint blockade and provide a therapeutic target for combination therapy (*Journal for Immunotherapy of Cancer*, in revision)
  5. **S.T.T. Schetters**, R.J.E. Li, L. Kruijssen, H. Kalay, S. Engels, J.J. Garcia-Vallejo, W. Unger, Y. van Kooyk, Adaptable antigen matrix platforms for peptide vaccination strategies and T cell-mediated immunity (*Biomaterials*, in revision)
  6. S. Horrevorts, **S.T.T. Schetters**, L. Kruijssen, Y. Van Kooyk, Exogenous palmitoylation of antigens as a multipurpose membrane targeting moiety (Submitted)
  7. T. Crommentuijn†, **S.T.T. Schetters†**, L. Kruijssen, S. Dusoswa, J.J. Garcia-Vallejo, Y. Van Kooyk, Murine glioblastoma infiltrates and shapes the checkpoint landscape outside the primary tumor site (*Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2020)
  8. **S.T.T. Schetters**, W.S.P. Jong, L. Kruijssen, H.B. van den Berg van Saparoea, S. Engels, W.W.J. Unger, D. Houben, J. den Haan, J. Luirink, Y. Van Kooyk, Bacterial inclusion bodies function as vehicles for dendritic cell-mediated T cell responses (*Cellular and Molecular Immunology*, 2019)
  9. S. Duinkerken, R.J.E. Li, F. van Haften, T. de Gruijl, F. Chiodo, **S.T.T. Schetters**, Y. van Kooyk, Chemically engineered glycan-modified cancer vaccines to mobilize skin dendritic cells (*Current Opinion in Chemical Biology*, 2019)
  10. **S.T.T. Schetters**, W.S. Jong, S.K. Horrevorts, L. Kruijssen, S. Engels, D. Stolk, M.H. Daleke-schermerhorn, J.J. Garcia-Vallejo, D. Houben, W.W.J. Unger, J. Den Haan, J. Luirink, Y. Van Kooyk, Outer membrane vesicles engineered to express membrane-bound antigen program dendritic cells for cross-presentation to CD8+ T cells (*Acta Biomaterialia*, 2019)
  11. **S.T.T. Schetters**, L. Kruijssen, J.J. Garcia-Vallejo, J. Ochando, Y. Van Kooyk, Mouse DC-SIGN/CD209a as target for antigen delivery and adaptive immunity (*Frontiers in Immunology*, 2018)
  12. E. Rodriguez, **S.T.T. Schetters**, Y. Van Kooyk, The tumor glyco-code as a novel immune checkpoint for immunotherapy (*Nature Reviews Immunology*, 2018)
  13. D. van Dinther, H. Veninga, S. Iborra, E. Borg, L. Hoogterp, K. Olesek, M. Beijer, **S.T.T. Schetters**, H. Kalay, J.J. Garcia-Vallejo, K. Franken, L. Cham, K. Lang, Y. Van Kooyk, D. Sancho, P. Crocker, J. Den Haan, Functional CD169 on macrophages mediates interaction with dendritic cells for CD8+ T cell cross-priming (*Cell Reports*, 2018)
  14. **S.T.T. Schetters**, D. Gomez-Nicola, J.J. Garcia-Vallejo, Y. Van Kooyk, Neuro-inflammation: Microglia and T cells get ready to tango (*Frontiers in Immunology*, 2018)
  15. M. Perdicchio, J.M. Illarregui, M.I. Verstege, L.A.M. Cornelissen, **S.T.T. Schetters**, S. Engels, M. Ambrosini, H. Kalay, H. Veninga, J.M.M. Den Haan, L.A. Van Berkel, J.N. Samson, P. Crocker, T.D. Sparwasser, L. Berod, J.J. Garcia-Vallejo, Y. Van Kooyk, W.J. Unger, Sialic acid-modified antigens impose tolerance via inhibition of T-cell proliferation and de novo induction of regulatory T cells (*Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016)
  16. W. Kamphuis, L. Kooijman, **S.T.T. Schetters**, M. Orre, E.M. Hol, Transcriptional profiling of CD11c-positive microglia accumulating around amyloid plaques in a mouse model for Alzheimer's disease (*BBA-Molecular Basis of Disease*, 2016)
  17. A. Olmos-Alonso†, **S.T.T. Schetters†**, S. Sri, K. Askew, M. Vargas-Caballero, C. Holscher, V. H. Perry, D. Gomez-Nicola, Selective targeting of CSF1R inhibits microglial proliferation and prevents the progression of Alzheimer's-like pathology (*Brain*, 2016)
  18. D. Gomez-Nicola, **S.T.T. Schetters**, V.H. Perry, Prion disease pathology is independent of the recruitment of peripheral monocytes and the activity of CCR2 (*Glia*, 2014)
- † Shared first authorship
- In preparation**
- S.T.T. Schetters**, K. Boelaars, E. Rodriguez, L. Kruijssen, M. Crommentuijn, J.J. Garcia-Vallejo, Y. Van Kooyk, PDAC stromal cells deposit sialic acid enriched ECM affecting PDAC immunology (in preparation)
  - N. Heemsker, **S.T.T. Schetters**, L. Kruijssen, K. Brown, Y. van Kooyk, M. van Egmond, Innate RGB triple transgenic reporter for imaging and quantification of innate immune dynamics (In preparation)
  - T. Hofland, R. de Boer, **S.T.T. Schetters**, E.B.M. Remmerswaal, F.J. Bemelman, M. Levin, A.P. Kater, S.H. Tonino, Human CXCR5+PD-1+ CD8 T cells in healthy individuals and hematologic malignancies (in preparation)



## **Chapter 16**

### **Acknowledgements - Dankwoord**

## Acknowledgements - Dankwoord

Nu dan, het moment van erkenning voor alle personen die mij in staat hebben gesteld dit proefschrift op een semi-gezonde manier te kunnen afleveren, een niet triviale prestatie van jullie kant. Hoewel ik probeer zoveel mogelijk mijn waardering in het moment uit te spreken, ben ik blij dat ik de mogelijkheid heb om het nu zwart-op-wit te mogen zetten.

Graag zou ik anekdotisch willen beginnen met de periode voor mijn promotietraject. Ik ben niet geboren met een interesse voor biologie of de werking van de natuur en heb meerdere rolmodellen nodig gehad om mijn ogen te openen voor de wetenschap. Tijdens mijn zeer middelmatige start op de Universiteit Utrecht, kwam mijn vriend **Sander Bosch** bij mij in huis wonen. Sander studeerde Neuroscience and Cognition in Utrecht en had vaak testpersonen (lees yours truly) nodig voor zijn wetenschappelijke onderzoek. De onderwerpen waren fascinerend en na lange gesprekken over de werking van het brein (en de nodige potjes Starcraft), wist ik dat ik neurowetenschappen wilde studeren. Tijdens mijn master Neuroscience and Cognition, woonde ik samen met een andere briljante geest met een smaak voor neurowetenschappen, **Ruud van Zessen**. Zijn meer biologische onderzoek naar het brein fascineerde mij. Toen ik mijn internship mocht invullen, was ik blij om aan immuun systeem in het brein te kunnen werken, voornamelijk de microglia. Na een jaar op het Netherlands Institute for Neuroscience in de groep van Elly Hol te hebben gewerkt aan Alzheimer's Disease, kon ik in Southampton aan de slag onder directe leiding van **Diego Gomez-Nicola**. Als er iemand is die mijn vroege vertrouwen in de wetenschap (en mijn plaats erin) heeft bevestigd, dan is dat Diego. Als getalenteerde research fellow wist hij mijn eigenwijsheid en passie voor het onbekende te sturen en aan te wakkeren. Sander, Ruud en Diego zijn voorbeelden voor me geweest en hebben me een wereld laten zien waar ik nu mijn passie en hart in kwijt kan.

**Yvette**, het is moeilijk jouw invloed op mijn professionele en persoonlijke groei te overdrijven. De eerste anderhalf jaar voornamelijk in de achtergrond, terwijl ik onder tijdelijke leiding stond van Wendy en later Juan. Toen ik uiteindelijk direct onder jou aan de slag mocht, veranderde alles voor me. Jij gaf me de vrijheid om mijn wilde ideeën te testen, samen te werken met anderen en de nieuwste technieken te proberen. Die vrijheid kwam met een persoonlijke verantwoordelijkheid die ik erg serieus nam. De druk van die persoonlijke verantwoordelijkheid voor mijn eigen onderzoek werd voldoende uitgebalanceerd door mijn passie om het onbekende te verklaren. Samen met Steef en voornamelijk Laura mocht ik de mooiste experimenten doen, samenwerken met Jordi in New York en nieuwe technieken leren in Washington. Ik ben naar meer buitenlandse congressen geweest dan misschien nodig was. Ik mocht altijd binnen lopen om mijn werk of de tragedie van een promotietraject te bespreken, een bijzondere luxe gezien jouw drukke agenda. Wanneer ik niet ophield met nieuwe ideeën en projecten, wist jij me op het juiste pad te houden met eerlijke raad – "Focus, Sjoerd". De laatste jaren heb ik ook geleerd jou te waarderen en bewonderen om je enorme veerkracht en menselijkheid. Jij hebt een ethos wat ik geweldig en erg gezond vind: "Neem je werk serieus, maar jezelf niet al teveel". Jouw toewijding aan je vak en jouw openhartige en vertrouwelijke persoonlijkheid zijn een groot voorbeeld voor me geweest. Met een ongelooflijk gevarieerde groep mensen, weet je goed aan te voelen wat iedereen persoonlijk en professioneel nodig heeft, met het bijbehorende geduld wat ik hoop ooit te kunnen evenaren. Ik heb me ook nooit alleen gevoeld in mijn onderzoek en dat is toch buitengewoon tijdens het promoveren. Ik ben niet de meest sociaal-wenselijke persoonlijkheid en verkies waarheid vrijwel altijd boven persoonlijke gevoelens, in het bijzonder tijdens wetenschappelijke discussies. Toch heb jij iets beters van me kunnen maken, een meer volwassen wetenschapper en mens. Bovenal, ik heb mezelf mogen zijn in een competitief veld en de vrijheid van creativiteit gekregen, het allerhoogste goed in de academische wetenschappen. Zonder jou was dit boekje er zeker niet geweest.



**Joke**, wat ben ik blij dat ik op jouw kennis en kritische blik heb mogen steunen de afgelopen vijf jaar. Als ik ergens van kan genieten is het een wetenschappelijke discussie gevoed door feiten en overtuiging, met de ongemakkelijke twijfel die daar bij hoort. Jouw kennis op het gebied van dendritische cellen en macrofagen, evenals ideeën over de opzet van muisexperimenten, was een stabiele factor waar ik altijd op kon rekenen. Jij staat voor het ideaal van waarheid, degelijke data en reproduceerbaarheid van experimenten, in een wereld waarbij onderzoek hip en sexy moet zijn. Dat waardeer ik en ik hoop dat je trots kan zijn op mij en mijn onderzoek. Ook jij wist mijn enthousiasme te interpreteren als passie, mijn dank daarvoor.

**Jan**, de late maar zo welkome toevoeging aan het MCBI en mijn carrière. In de korte tijd dat wij hebben mogen samenwerken, heb ik ongelooflijk genoten van je enthousiasme en expertise. Waar Yvette een voorbeeld was als gevestigde wetenschapper, was jij meer direct een voorbeeld van jonge PI. Jij was altijd in voor de harde wetenschappelijke discussies en brain storm sessies, inclusief de nodige hoeveelheid fantasie. Je gaf me raad, stuurde me papers en liet me vaak genoeg voelen hoe weinig ik wist (en hoeveel er dus nog te ontdekken was!). Jouw “do it” mentaliteit en positieve insteek waren een frisse wind en het was een plezier om met je te mogen werken. Hopelijk kunnen we dit in de toekomst doorzetten!

Ik wil graag mijn leescommissie bedanken, want zij zijn toch slachtoffer geworden van mijn ijverigheid. Allen hebben zij de afgelopen 5 jaar indruk op mij gemaakt als wetenschappers en leiders binnen hun vakgebied en het is een eer hen te mogen includeren in de leescommissie. Prof. Dr. **Marjolein van Egmond**, bedankt voor de altijd leuke en sterke gesprekken op MCBI activiteiten en in de korte rol als mentor. Prof. Dr. **Jannie Borst**, bedankt voor uw raad tijdens de beoordeling en de ongetwijfeld treffende vragen tijdens mijn verdediging. Prof. Dr. **Jo van Ginderachter**, bedankt voor uw toewijding om aanwezig te zijn op mijn verdediging. Hoewel we elkaar nog niet ontmoet hebben, zie ik uit naar onze discussie over myeloïde cellen in tumoren. Prof. Dr. **Bart Lambrecht**, uw wijde kennis van de immunologie en diens toepassingen, maken u de perfect opponent en ik zie dan ook uit naar onze discussie. Dr. **Thorwald van Hall**, uw bewezen expertise in tumor immunologie en antigen presentatie zijn erg welkom in de beoordeling en verdediging van mijn proefschrift, dank voor uw aanwezigheid.

**Wendy**, niet alleen als Dr. Wendy Unger onderdeel van mijn leescommissie, maar ook als voormalig begeleider wil ik je graag bedanken. In de beginfase van mijn promotie wist ik voornamelijk uit te kramen “...maar waarom?”. Dat zal niet altijd makkelijk geweest zijn en toen je de kans kreeg om je eigen groep in Rotterdam te beginnen, begreep ik die keuze meteen. Sindsdien hebben onze paden elkaar vaker gekruist en waardeer ik je enorm om je plezier en passie in je rol als groepsleider. Ik ben blij dat we zoveel leuke gesprekken gehad hebben en dat er altijd een biertje en een lach bij kwam kijken. Bedankt voor al die goede tijden, hopelijk niet de laatsten!

**Juan**, even though we are personally and professionally incompatible, I have always admired your drive and enthusiasm in taking the next technological leap in science. I remember sending you an email in 2014 with an article on mass cytometry, which you of course already saw and were trying to get into the department. Because of you I was able to go to Ronald Germain’s lab and learn multiplex microscopy and histocytometry analysis, for which I am grateful to this day. You are also an excellent scientific writer and have opened my eyes to the structure of grammar and coherent story telling.

**Laura**, wat ben jij een held. Het is 1 ding om mijn enthousiasme en creativiteit in banen te leiden, het is een heel ander ding om eraan onderworpen te worden. Ik geloof dat Yvette zich wel eens zorgen heeft gemaakt over de druk die ik op jou legde, maar jij wist dat ongelooflijk goed te doorstaan. Ik heb altijd het gevoel gehad dat we een team waren en waar ik een steekje liet vallen, was jij flexibel genoeg om dat met verve op te pakken. En ik heb wat steekjes laten vallen... Wij deden de grootste experimenten, testten de meest wilde hypotheses en de verwerkten de meest uiteenlopende organen. Jouw toewijding is ongekend en ik kon altijd op je vertrouwen, iets waar ik je ongelooflijk dankbaar

voor ben. Jij bent niet alleen uitvoerend geweest, maar je had ook waardevolle ideeën, wees me op alle dingen die ik vergat en organiseerde de meest ingewikkelde en uitgebreide experimenten. Ergens is dit niet alleen mijn thesis, maar ook een reflectie van de kwaliteit van jouw werk. Het was een eer om met je te mogen werken en het feit dat het zoveel hoofdstukken kunnen zijn, komt door jou.



**Rui-Jun Eveline Li** AKA “Li” AKA “Iron woMan”, ik moet al glimlachen als ik aan jou denk. Jij bent zo lekker gewoon gebleven, ondanks alle faam. Je bent superslim, lui, eerlijk, lomp, betrouwbaar, zorgzaam en bezit de juiste hoeveelheid zelfspot. Ik ben zo blij dat wij onze promotie samen hebben gedaan en bij elkaar op de kamer zaten. God mag weten dat je me op de juiste momenten geestelijk gezond hebt gehouden. Je bent een voorbeeld van weerbaarheid en compassie geweest, want waar jij lui kan zijn, kun je ook alles opzij zetten voor de mensen om wie je geeft. Je bent zo heerlijk jezelf en ik ga onze tijd van lol, spot en chill missen.

Er is veel veranderd in de tijd van 2014 tot 2019, ik kijk graag terug naar de tijd in de Medische Faculteit aan het begin van mijn promotietraject. Met mede-PhD studenten als **Yotam, Rens, Esil, Gera, Marc, Claudio, Philip** en **Cynthia** hadden we een hele fijne huislijke sfeer, dank voor jullie kameraadschap. **Marga Appels** was destijds Yvette’s secretaresse en surrogaat-moeder van de groep. Bedankt voor je raad en warme steun, Marga. **Christien Dijkstra**, bedankt voor al je raad en mijn introductie tot het MCBI. Toch grappig dat Hugh Perry (Southampton) via jou voor mij een promotieplek zocht, maar dat ik uiteindelijk via sollicitaties toch bij Yvette terecht kwam. Bedankt voor die mooie beginperiode!

Alle leden van groep Yvette moet ik bedanken; **Sophie H**, we hebben het gered! Het was een veldslag, maar we hebben zo veel geleerd dat we meer dan ooit in staat zijn te doen waar we echt gelukkig van worden. Bedankt voor al je support en blij dat we nu zijn waar we zijn :) **Lenneke**, harde werker, bedankt voor de avondjes pils met Steef en de goede vibe in onze tijd met Wendy. **Ernesto**, you crazy smart bastard, thanks for all the hangs, talks, writing and figure making. Don’t forget to enjoy it all, because you do some amazing work. **Sanne**, hoe rustig jij onder al het onderzoeksgeweld bleef is bewonderenswaardig. Bedankt voor alle lol, hoge hakken en dubbelvouw truczen. **Sophie D**, ahhh, de MD met een hart voor translationeel onderzoek. Ik heb met bewondering gezien hoe jij de translatie van de kliniek naar de academische wetenschap toehaalt. Ik ben blij je te leren kennen als open, eerlijk, slagvaardig en gedreven persoon. Jij hebt al je successen verdiend. **Dieke**, que hermosa persona eres. Want ja, de helft van de tijd sprak je Spaans en kon ik er niets van volgen. Bedankt voor alle goede en bijzondere gesprekken, hoe jij de uitdagingen in je leven aanpakt vind ik moedig en sterk. Ik ben blij dat je in de wetenschap doorgaat en hoop je dan ook nog vaak te zien. **Kelly**, wat een taak om zomaar glycosylering, tumoren en immunologie te mixen met Ernesto en mij om je heen. Bedankt voor je inzet en heel veel succes, you can do it! **Aram**, mister Spaceman, bedankt voor je inzet met de EndoSIGN muis, hoop dat het je succes en geluk brengt! **Kari**, you wonderful being. You were definitely the surprise I never expected! You showed an amazing capability to



learning and made the most amazing images using multiplex microscopy. But mostly, I admired your adventurous attitude in times of uncertainty, your open communication, your enthusiasm and your dedication in the year you were Yvette’s research fellow. Thank you for the conversations that made me think and shape my opinions, it was a blast. **Dorian**, jou heb ik echt gemist tijdens mijn promotie. Als Sophie’s student bleek je zowel getalenteerd als een mateloos coole chick. Jouw nieuwsgierigheid en vermogen tot deductief redeneren, maakt je echt een plezier om mee te werken. Het lot had het anders

voor ogen en smeed nog wat extra uitdagingen op je pad. Men zegt dat je zoveel op je bord gesmeten krijgt als je aankan; nou, dat zegt dan nogal wat over jouw veerkracht. Je bent een held en ik hoop nog veel van je te zien en te horen, jij komt er hoedanook! Bedankt for being you, dat was meer dan genoeg. **Sven**, bedankt voor de lol en goede gesprekken die we hebben gehad. Labs zo georganiseerd als in het O2 ga ik waarschijnlijk niet meer zien, ik kon er blind werken. **Joost**, bedankt voor je fucked up humor, ik kon daar wel van genieten. **Thijs** buddy, eerst als PhD studenten op de retreat en jij daarna als post-doc bij Yvette. Bedankt voor al je kennis, vaardigheden en zeker ook gezelschap! We hebben een hoop lol gehad en hard gewerkt met alle hersenchirurgie en muizenzorg. **Joyce**, bedankt voor je openheid en glimlach, heel fijn in de storm van groep Yvette. **Fabrizio**, ugh, I wish you were there earlier! Supersmart, engaged and optimistic, I really liked you as a group member and wish you all the best in the future. **Miguel**, mr cockroach king! Your personality is one I won't forget and thank you for all the music talk and late night science run-ins. **Joanna**, hard working woman of great intellect, I really liked being your colleague! PhD meetings were fun because of you and you didn't hate me for my critiques on liposomes ;) **Leo**! Weet je nog toen we fitboy en fitgirl waren? Crazy tijden, maar wel supermooi! Thanks voor alle lol! **Kat**, bedankt voor alles, jij hebt me laten lachen toen ik niet wist hoe en ik zal die tijd nooit vergeten.

Ook mijn MCBI collega's uit de andere onderzoeksgroepen wil ik niet vergeten, aangezien zij allemaal bij hebben gedragen aan een leuke werksfeer. **Niels**, bedankt voor je enthousiasme en drive in alle microscopie en tumorwerk, het was fun! **Mandy**, **Sabela**, **Kyra**, **Sanne** en **Karl**, thanks for all the great hangs, PhD nights and FACS experiments! **Alsya**, I enjoyed the short time we were colleagues and thank you (incl Karina) for being so nice, your PhD defence was a lot of fun. **Reza**, I remember all the good talks we had on science, but also personal stuff. Thanks for being you man, I really liked talking to you about science and everything else. I'm super happy you're continuing in science and hope to see you for a lot more chat down the road. **Anouk**, bedankt voor alle roommie talk, was heel chill in ons kamertje. **Jan** the CyTOF-man, bedankt voor al je hulp en expertise met de CyTOF! **Sylvia**, bedankt voor alle producten, orders en voornamelijk koffie melk! **Tineke**, bedankt voor al die mooie projecten en beelden, was superleuk om aan mee te doen en jouw talent uiteindelijk aan de muur te zien. **Jasper**, **Tanja en kids**, wat zijn jullie leuke mensen! Al ben ik soms waardeloos in de communicatie, een appje van jullie maakt me altijd blij. Bedankt voor alles! **Nico**, thank you for all my PC, storage and IT needs, you were often a great help. **Eelco**, bedankt voor al je inzet en werk in het lab en met de muizen. **Karin**, bedankt voor het geouwehoer op de maandagochtend en de onderwijstaken, was lachen. **Monique**, bedankt voor het uitgeven van al dat geld, hopelijk heb ik het niet weggegooid! **Mariska**, bedankt voor alle gesprekjes tijdens het wachten voor Yvette's kantoor, het maakte het wachten leuk! **Henri**, bedankt voor de schone labjassen kerel. **Tim Moors**, **Maartje Nijmeijer**, **Maarten Witte**, **Merel Rijnsburger**, **Annelot Breedveld**, **Martje Erkelens**, **Amelie Bos**, **Melissa van Gool**, **Marieke Heineke**, **Alwin Kamermans**, **Niels de Graaf**, **Thanos Blanas**, **Nienke de Wit**, **Juan-Martin Moeilijkeachternaam**, **Toon Zwiers**, **Nanne Paauw**, **Richard van der Mast**, **Ed Dopp**, **Susanne van der Pol**, **Rogier Reijmers**, **Rose-Marie Stielck-Aarsen** thank you all for making my time such a nice one.

I have to thank the chemical brothers **Martino** and **Hakan**, who made many vaccine compounds that have led to much of the work we have done. I was truly bad at chemistry in high school and avoided it in University. But I remember the first it was suggested I designed a molecule; it blew my mind that was even possible. Throughout all iterations, I really enjoyed all the chemical talk, the trouble shooting and the high quality work. You guys are awesome.

I would like to thank the students that have put their faith of their education in my hands, I'm proud of each one of them. **Inigo**, you are a great example of a critical and fast thinker, I really liked that in you! **Gil**, bedankt voor al je tijd en energie die in het lipopeptide project is gegaan. **Bart**, niet de makkelijkste periode voor je, maar hoe jij je herpakt hebt in alle eerlijkheid en zelfontwikkeling is bewonderenswaardig. **Pim**, met zo'n steile leercurve als jij hebt laten zien, kun je de wereld aan, geweldig!



Hoewel het misschien niet domineert in mijn proefschrift, heb ik vele dagen en weekenden besteed achter de Leica SP8 fluorescentie microscoop. Dus in eerste instantie mijn dank aan **Renee Musters** en **Jeroen Kole**, de microscopohelden die mij in het allervroegste stadium van introductie toegang gaven. Die ultieme vrijheid was heerlijk en heeft uiteindelijk wel tot prachtige data geleid. **Marko**, thank you so much for being such a great guy! Your support was top notch and you were the most fun to talk to and think about cool things to imag(in)e.

A special thanks to **Tom O'toole**, who is now probably sipping on some cocktail, enjoying his well-deserved pension. Thanks for allowing me into the flow facility so many hours and being cool with me not wearing a labcoat while sitting behind the machines, those things make you crazy hot. **Tanja**, sorry again for not checking the waste and flow containers, but thanks so much for setting up and cleaning our beloved Fortessa.

Bedankt, **groepleiders van het MCBI** die interesse hebben getoond in mijn werk of mij geïnteresseerd hielden met hun werk. Bedankt **Elga**, **Gijs** en **Jack** voor alle neuro-immunologie meetings waar ik bij mocht zijn, dat was echt top!

Er zijn vele samenwerkingen waarin ik mijn bedrage kon leveren, was het is kleine mate of hele projecten. Allereerst wil ik natuurlijk de microbiologen bedanken van de VU Molecular Microbiology department, met wie ik vanaf dag 1 heb mogen samenwerken aan alle bacterie-gerelateerde vaccins. **Joen Luirink**, dank voor het vertrouwen in mij om iets moois te maken van de OMVs en Inclusion Bodies. **Wouter Jong** en **Diane Houben**, bedankt voor de fijne samenwerking, ik geloof dat we er wel iets moois van hebben gemaakt! **Bart van den Berg van Saparoea**, bedankt voor alle verschillende versies Inclusion Bodies waar ik om bleef vragen.

As a visiting scientist I was able to visit the lab of Ronald Germain at the National Institute of Health (Bethesda, US) for a month. Thank you, **Ronald Germain** for taking the time to talk with me at length, it was a mind blowing experience. Thanks **Antonio** and **Michael** for teaching me how to perform multi-color microscopy and histocytometry analysis, it was enlightening in many ways.

In a collaborative effort working on mouse DC-SIGN, I would like to thank **Jordi Ochando** for hosting me multiple times at the Mt. Sinai Hospital in New York, US. While I did not visit for the planned half year, I still enjoyed our discussions and the work that came out of it.

Mijn dank gaat uit naar **Mandy van Gulijk** en **Floris Dammeijer** van het Erasmus UMC, wie ik heb mogen helpen met multi-color microscopie. Jullie paper is fantastisch geworden en het was top samenwerken!

Dankjewel **Tom Hofland** voor de mooie samenwerking met het imagen van humane lymfe klieren, prachtige histo-cytometry data!

**Bas van der Schoot**, ouwe baas DC-SIGN van het Nijmeegse kamp! Thanks voor de gedeelde "targeting"-smart, het was lethargisch.

Bedankt, **Louis Boon** voor alle antilichamen, je feedback en de gesprekken op de verschillende congressen.

Dank aan **Jesse van der Mark** en **Caspar de Zeeuw** van Sensu voor hun fantastische werk aan de Glycotreat film. Het gebeurt niet vaak dat ik te zien ben op het doek van het filmfestival van Cannes. En dan de Global Short Film Award winnen in de categorie 'Best Science and Technology Film', hulde heren!

Uiteindelijk Nederland verlaten was niet gemakkelijk en ik wil meerdere mensen uit Gent bedanken die het laatste stukje van mijn promotie hebben verlicht. First, a huge "thank you" to **Bart** and **Hamida**, who have given me a new scientific home of the absolute best quality. I feel like a kid in



a candy store at the VIB and can't wait to continue our work on eosinophils. The whole **research group of Bart and Hamida** have been incredibly nice and welcoming. Thank you for taking my weird ass in with so much grace. **Justine, Stijn** and **Ursula**, thanks for your enthusiasm and being such nice people. **Julie, Ruth** en **Pietro**, bedankt voor jullie

ongelooflijke gastvrijheid en vriendschap, ik reken mij zegenrijk met jullie!

Enorm dankbaar voor mijn ex-bandmaten van **Panic Attack** en **Autoplay**, zonder de geestelijke douche van de muziek was ik zonder twijfel gek geworden.

De **Otters** van de Otterstraat; zo lang geleden en nog steeds een actieve bende. Ik geniet er elke keer weer van om verhalen op te halen, maar ook om iedereen te zien groeien als wetenschapper, plant, vader, moeder, fietser, of wereldreiziger. **Nico, Ruup, Nijek, Len, Barrie**, Bedankt!

Bedankt **Martijn** en **Lieke** voor de gastvrijheid in het pitoreske Kuuk!

De Wulpstraat is toch de mooiste straat van Utrecht, vooral nummertje 33. **Elize** en **Tirsa** zullen het daar vast mee eens zijn, hulde dames. **Marjon**, bedankt dat je zo'n geweldige buurvrouw was de afgelopen jaren. **Henkie**, ik had je er graag bij gehad op mijn verdediging, maar jij had helaas andere plannen. Doe Pietje en je dames daarboven de groeten, en goed blijven eten he! **Marius** ouwe boef, was een mooie tijd, hou je goed!

**Johan**, waarschijnlijk mijn oudste vriend en nog steeds hier. Bedankt voor je geduld tijdens mijn promotie, ik maakte er soms een potje van, maar was altijd welkom. Thanks maat! **Zandra**, awesome to have you with him!

**Steeff, Do** en **Frits**, bedankt voor alles. Steefie, jij was essentieel voor de topsfeer in het MF en mijn intro in al de muisexperimenten. Godzijdank werken we niet meer samen, want dan had ik al dat moois van de afgelopen jaren waarschijnlijk niet meegemaakt. Wij zijn als vrienden veel beter dan collega's en ik hoop dat dat zo blijft. Toch, jouw experimenten staan hier zeker tussen de hoofdstukken en jij hebt mij glorieus ingewerkt. Je had me wel eens mogen vertellen hoe je een 96-wells plaat met cellen adequaat boven je hoofd houdt, maar goed. Ik kom graag op de Zwarte Woud, dank!

**Ot, Bas** en **Bella**, jullie hebben me laten zien hoe onvoorwaardelijk eruit ziet. Jullie oprechte vriendschap heb ik enorm gewaardeerd in de allermoeilijkste periodes en daarmee sta ik voor eeuwig bij jullie in het krijt. Jullie zijn samen een voorbeeld voor me en ik hoop dat nog vaak en lang te moeten zien. Wat mij betreft heeft die vriendschap geen onderhoud nodig, jullie zijn altijd welkom. **Caro, Noud** en **Liv**, bedankt voor jullie ontzettend lieve steun! **Karien** en **Jos**, bedankt voor jullie gastvrijheid en openheid, dat heeft veel betekend.

**Claire, Gerrie** en **Guus**, bedankt voor jullie open huis. Malle, wij hebben toch wel een bijzondere band en hoe jij en Gerrie mij altijd uitnodigen vind ik ongekend. Bedankt voor alles!

**Niek** kerel, met jou praten is soms een vorm van kunst. Gevatte opmerkingen uit elke hoek, van slap geouwehoer tot de diepste kernen van angst en liefde. Je zit nu waarschijnlijk op je motor in Bogota

een groep dwergen van je nek af te houden, maar zodra je terug bent gaan we het intellectuele goed van Amsterdam weer belichten.

**Barrie, Ruud**, bedankt voor je vriendschap. Het maakt niet uit hoe lang we elkaar niet zien, het is altijd top notch. Supergoede gesprekken en wetenschapsfilosofie, of gewoon wat dromen over wat links en rechts is. **Inge**, jij bent een vurige vrouw en een plezier om mee te discussieren. Bedankt voor die schaarse, maar broodnodige momenten!

**Steven, Salome and kids**, thank you for having me over here in Belgium!

**Arnout en Lianne**, een half leven van muziek gedeeld en dat gaat niet in de koude kleren zitten ;) Nog aan het begin van mijn promotie Panic Attack, maar al snel weer andere muzikale paden. Een hele bijzondere bruiloft meegemaakt en nieuwe muziek met Kevin. Bedank voor jullie blijvende vriendschap!

**Rens and Evelina**, you have the most magnificent and tormenting starts of a relationship. You are the prime example of how perseverance can conquer anything. Rens, I'm happy we are friends and with such lasting quality. I love the Skype sessions and the general updates. We have shared a lot at the MCBI and during these last few years, thanks for all of that! Evelina, thanks for making Rens so happy, you are wonderful.

Als onderdeel van twee hechte families, moet ik toch mijn **familieleden van Schetters en Scholts** noemen. In eerste instantie al mijn nichten en neven van de familie Scholts (inclusief Joyce), die de afgelopen jaren genoeg onderzoeksverhalen over kanker of Alzheimer hebben moeten doorstaan, dank jullie wel! **Paul Jr.** voor het afstraffen van mijn fysieke ego gedurende een kickbox lesje, het was oprecht heerlijk! Dankjewel voor die momenten, ook met **Nicole!**

**Wouter**, we go way back to University Utrecht (apart from family) and Boxmeer, how cool is that! I really enjoyed our little chats and moments in Utrecht, Rotterdam and Amsterdam, during PhD trajectories and after. You meeting **Sandra** was even more glorious, what a woman! Super happy for you both now in Gotenburg, thanks for everything!

**Arjan**, neef! Jij bent wel de meest loyale neef die ik heb en mijn dank daarvoor! Hoe jij de familie en ons bij elkaar houdt is een groot goed en ik heb de afgelopen jaren vaak van je gezwets mogen genieten. **Frank en Rima**, thanks for being part of the active Schetters posse. **Rudy** en tante **Karin**, altijd aanwezig bij Pariah en altijd geïnteresseerd in ons reilen en zeilen, bedankt!

**Marlies**, na bijna een decennium samen groeien, ben ik een beter mens geworden dan ik dacht te hoeven zijn. Zonder jou zou ik de man niet zijn die ik nu ben, waarvoor mijn eeuwige dank.

**Joe**, hoe wij tegenwoordig met elkaar kunnen praten is echt bijzonder en is voor mij enorm waardevol. Je hebt het allemaal gehoord en zelf het een en ander meegemaakt. Je was er toen het moeilijk was, oneindig dank daarvoor. **Denise**, je bent de perfect basis voor Joe en hebt zelf ook zoveel te geven, bedankt!

**Lynn**, je blijft me verwonderen en inspireren. Tussen alle verantwoordelijkheid, zingeving en zelfontwikkeling door, durf jij een ontembare wervelstorm van emotie en plezier te zijn. Je bent dapper en een persoonlijk voorbeeld van wat ik wel eens verwaarloos.

**Jelle**, my brother from another mother. In mijn wereld, gedomineerd door een convenabele matriarchie, staan wij schouder aan schouder voor mannelijke hoffelijkheid, de soevereine individu en de persoonlijke verantwoordelijkheid, immer onder druk van uitdagingen, strijd en verleiding. Jij blijft mij al jaren scherp houden met filosofie, onverbloemde eerlijkheid en persoonlijke groei. Wij boxen elkaar mentaal en fysiek tot ons 100ste het graf in en ik kijk er naar uit.



De onveranderde basis blijft altijd mijn broers, zus en mijn ouders. **Sep**, broer. Wij hebben inmiddels zoveel al gedeeld samen, van huizen tot bands. Je bent mijn huurbaas geweest en redding bij een tijdelijke verhuizing. Met **Jolien** ben jij nu de basis geworden in Utrecht en ik kan niet blijer met jullie zijn. Bedankt! **Stijn**, broer. Wij hebben toch een bijzondere band gekregen, met een filosofische inslag waar je mij mee verrast en verwonderd. Samen met **Jitske** zijn jullie een intelligent en verfrissend duo waar ik graag op discussie kom ;) Dankjewel hiervoor. Lieve **Bernadette** en **Martin**, bedankt voor al jullie veringskracht en plezier de afgelopen jaren, jullie weten er altijd een feestje van te maken.

**Pap en mam**, het eindigt waar het begon. Als team hebben jullie mij de grenzen en de vrijheid gegeven om voor mezelf te denken en mij weerbaar te maken in een oneerlijke wereld. Hoe ouder ik word, hoe meer ik jullie begrijp en hoe sterker onze band wordt. Bedankt voor alle kansen, alle steun en alle liefde.