

ABBREVIATIONS

APC:	antigen presenting cell
ANOVA:	analysis of variance
BSA:	bovine serum albumin
CCR5:	chemokine (C-C motif) receptor 5
CD:	cluster of differentiation
CHO:	Chinese hamster ovary cells
CMV:	cytomegalovirus
CRD:	carbohydrate recognition domain
CTL:	cytotoxic T-lymphocyte
CXCR4:	chemokine (CXC) receptor 4
DC:	dendritic cell
DC-SIGN:	dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing non- integrin
EGFP:	enhanced green fluorescent protein
EGTA:	ethylene glycol tetra-acetic acid
ELISA:	enzyme-linked immunosorbent assay
ELISPOT:	enzyme-linked immunosorbent spot assay
Env:	envelope
ER:	endoplasmatic reticulum
FACS:	fluorescence activated cell sorter
FITC:	fluorescein isothiocyanate
GalNAc:	<i>N</i> -acetylgalactosamine
GalCer:	galactosylceramide
GlcNAc:	<i>N</i> -acetylglucosamine
GFP:	green fluorescent protein
GM-CSF:	granulocyte macrophage colony stimulating factor
Gp120:	glycoprotein 120
HBV:	hepatitis B virus
HCV:	hepatitis C virus
HSPG:	heparan sulfate proteoglycan
HSV:	herpes simplex virus
HIV:	human immunodeficiency virus
HPV:	human papilloma virus
HS:	heparan sulfate
HSPG:	heparan sulfate proteoglycan
HSV:	herpes simplex virus
ICAM:	intercellular adhesion molecule
iDC:	immature DC
IFN:	interferon
IL:	interleukin
LC:	Langerhans cell
LPS:	lipopolysaccharide
L-SIGN:	liver/lymph node specific ICAM-3 grabbing non-integrin
LTA:	lipoteichoic acid

LTR:	long terminal repeat
mAb:	monoclonal antibody
MFI:	mean fluorescence intensity
MHC:	major histocompatibility complex
moDCs:	monocyte-derived dendritic cell
MR:	mannose receptor
mRNA:	messenger RNA
MV:	measles virus
MVB:	multi-vesicular body
PAMP:	pathogen-associated molecular pattern
PBL:	peripheral blood lymphocyte
PBMC:	peripheral blood mononuclear cell
PBS:	phosphate-buffered saline
PE:	phycoerythrin
PFA:	paraformaldehyde
PFU:	plaque forming units
PHA:	phytohemagglutinin
PRR :	pattern recognition receptor
R5 HIV:	CCR5-using HIV
RNA :	ribonucleic acid
RLU:	relative light units
RT:	reverse transcriptase
RT-PCR:	reverse transcription PCR
SARS-coV :	severe acute respiratory syndrome-corona virus
SIV:	simian immunodeficiency virus
SLAM:	signalling lymphocyte activation molecule
STD:	sexually transmitted disease
TCID:	tissue culture inflammatory dose
TCR:	T cell receptor
TGF:	transforming growth factor
TH1/TH2/TH17:	T helper 1, T helper 2, T helper 17
TLR:	Toll-like receptor
TNF:	tumour necrosis factor
VLP:	virus like particle
X4 HIV:	CXCR4-using HIV
VZV:	varicella-zoster virus

Glossary

Dendritic cell subsets and models

- **DC-SIGN⁺ DCs:** a subset of DCs that expresses the C-type lectin DC-SIGN. DC-SIGN⁺ DCs are located in the dermis and lamina propria/subepithelial tissue of peripheral tissues, as well as in blood and lymphoid tissue. In the skin these cells are also referred to as dermal DCs.
- **Langerhans cells:** a subset of DCs that expresses the C-type lectin Langerin and contains Birbeck granules. LCs are located in the epidermis and stratified epithelia.
- **Monocyte-derived DCs (moDCs):** a model to study DC-SIGN⁺ DCs. Human monocytes are isolated and cultured in the presence of IL-4 and GM-CSF. After 6 days these cells acquire a typical DC morphology and express different DC markers such as CD80, CD86, DC-SIGN and are able to stimulate naïve T cells
- **Monocyte-derived LCs (moLCs):** TGF- β is added to the culture of moDCs. A part of the cells will express Langerin and contain birbeck granules and might therefore be a model to study LCs. However, a part of the cells will also express DC-SIGN and TLRs that are not expressed on primary LCs.
- **CD34⁺-LCs:** a model to study LCs. CD34⁺ stem-cells are isolated from bone marrow or cord blood and cultured with IL-4, GMCSF and TGF- β . After 6 days these cells acquire a DC-like morphology, express Langerin and contain birbeck granules.
- **Emigrant LCs:** a model to study primary LCs. Epidermal sheets are prepared from human skin and cultured in medium. After two or three days a part of the LCs has crawled out of the tissue and is harvested to use for subsequent experiments. Our studies indicated that emigrant LCs are partly mature. They express CD80, CD83 and CD86, HLA-DR, intermediate levels of Langerin and CD1a. Emigrant LCs contain birbeck granules.

C-type lectins

- **C-type lectins:** a family of cell surface receptors that belong to the pattern-recognition receptor family. These receptors recognize carbohydrate structures in a calcium-dependent manner and are thought to play an important role in the immune system.
- **DC-SIGN/CD209:** a C-type lectin that is expressed on a subset of immature DCs and macrophages in the lymphoid tissues with carbohydrate specificity for high mannose and Lewis antigens.
- **L-SIGN/CD209L:** a homologue of DC-SIGN, expressed on liver sinusoidal endothelial cells and lymph node sinusoidal endothelial cells, with specificity for high mannose and Lewis antigens (not Lewis X).
- **Langerin/CD207:** a C-type lectin that is expressed by immature LCs. Langerin has specificity for high mannose, fucose and GlcNac carbohydrates and induces the formation of Birbeck granules.
- **Mannose receptor/CD206:** a C-type lectin that is expressed on a population of DCs, macrophages, lymphatic endothelium and liver sinusoidal endothelial cells. Mannose receptor has specificity for mannose, fucose, GlcNac and sulfated glycans.

Heparan sulfate proteoglycans

- **Heparan sulfate chains:** heparan sulfate chains consist of repeated uronic acid and N-acetylglucosamine disaccharides with regions that are more or less sulfated.
- **Heparan sulfate proteoglycan:** molecules consisting of a core protein to which extended heparan sulfate chains are attached that mediate binding of ligands. Two main transmembrane heparan sulfate proteoglycans are the glypicans and the syndecans.
- **Syndecans:** family (syndecan 1-4) of transmembrane heparan sulfate proteoglycans, consisting of a short cytoplasmic domain and an extended extracellular domain with three heparan sulfate chains. Syndecans can serve as co-receptors for growth factors and cytokines and can elicit signal transduction via their cytoplasmic tails
- **Syndecan-3:** also referred to as N-syndecan. Expressed on cells of the nervous system and a subset of DCs. Syndecan-3 is thought to be involved in bone development and energy balance

Antigen presentation

- **MHC class-II presentation:** presentation of peptides derived from internalized proteins (exogenous antigens) via intracellular vesicles. MHC class-II molecules bearing peptides are recognized by the T cell receptor of CD4⁺ T cells.
- **MHC class-I presentation:** presentation of peptides derived from proteins that are synthesized in the cytosol (endogenous antigens), such as during viral infection. MHC class-I molecules bearing peptides are recognized by the T cell receptor of CD8⁺ T cells
- **Cross-presentation:** presentation of exogenous antigens in the context of MHC-class-I molecules, mediating CD8⁺ T cell responses.
- **CD1a:** a member of CD1 molecule family, cell surface receptors that are involved in antigen presentation. CD1a has been shown to be involved in the presentation of lipids to CD1a restricted T cells.

Virus:dendritic cell interactions

- **Infection in cis:** a DC captures a virus via a cis-receptor (e.g. DC-SIGN) and this interaction enhances infection of the same DC by facilitating the interaction with the entry receptors for the virus (e.g. CD4/CCR5).
- **Trans-Infection:** DCs capture a virus via a trans-receptor (e.g. DC-SIGN) and mediate infection of other cells by the same virion (also referred to as first phase transmission)
- **De novo transmission:** Infected DCs produce new virus particles and mediate infection of other cells by these newly produced virions (also referred to as second phase transmission or cis-infection)
- **Infectious synapse:** intimate interaction between DC and T cell in which virus is transferred from DC to the T cells (sometimes referred to as virological synapse). The infectious synapse is thought to resemble the immunological synapse, which is formed between DCs and T cells during antigen presentation.

HIV-1-related

- **X4 and R5 HIV-1:** To infect a cell HIV-1 needs the expression of the entry receptor CD4 as well as the expression of a co-receptor. X4- and R5-tropic HIV-1 are strains that use the co-receptor CXCR4 and CCR5, respectively.
- **SIV and SHIV:** SIV is the simian immunodeficiency virus that infects macaques and SHIV is an abbreviation used for chimeric replicating viruses containing different combinations of genes from both HIV and SIV
- **CCR5/CD195:** a chemokine receptor that binds the chemokines, RANTES, MIP1 α and MIP-1 β . CCR5 is predominantly expressed on T cells, macrophages and dendritic cells and microglia and acts as a co-receptor for R5 HIV-1.
- **CXCR4/CD184:** also called fusin, is a chemokine receptor that binds stromal-derived-factor-1 (SDF-1), which is thought to be involved in hematopoietic stem cell homing. CXCR-4 is expressed on a wide range of cells, including CD34⁺ hematopoietic stem cells and T cells.
- **CD4:** a glycoprotein expressed on the surface of T helper cells, regulatory T cells, monocytes, macrophages and dendritic cells. On T cells, CD4 is the co-receptor for the T cell receptor and involved in T cell receptor signaling.
- Measles virus-related
- **CD150/SLAM:** CD150 is a member of the immunoglobulin-superfamily, and expressed on immature thymocytes and subpopulations of T and B cells, DCs and macrophages. CD150 is thought to be involved in TCR signalling and macrophage function. CD150 is a receptor for both lab-strains and wild-type strains of MV.
- **CD46/MCP:** CD46 is a type I membrane protein and is expressed on all nucleated cells. CD46 has a regulatory function in the complement system. CD46 is a receptor for lab-strains of MV, including the vaccine strain Edmonston.

Curriculum Vitae

Lotje de Witte werd geboren op 23 augustus 1980 in Gennep. Na het behalen van haar VWO diploma in 1998 aan de Nijmeegse Scholengemeenschap Groenewoud, begon zij de studie Geneeskunde aan de Universiteit van Amsterdam. Na wat omzwervingen bij de studie natuurkunde en als cabaretière-in-opleiding rondde zij, na een wetenschappelijke stage in Melbourne, Australië, haar doctoraal examen af. Gefascineerd door de wetenschap, besloot zij dat het lopen van co-schappen tot onbepaalde tijd moesten wachten en ging op zoek naar een positie om basaal onderzoek te doen. Ze belandde voor een stage bij het Nederlands kanker instituut en kwam vervolgens terecht bij de Vrije Universiteit. Na deze stages, begon zij haar promotieonderzoek bij Theo Geijtenbeek en Yvette van Kooyk op de afdeling Moleculaire Celbiologie en Immunologie aan het VU Medisch Centrum. De resultaten van haar onderzoek staan beschreven in dit proefschrift. Momenteel is zij bezig als 'deeltijd-postdoc' op de afdeling Virologie bij het Erasmus Medisch Centrum en zal na de verdediging van haar proefschrift beginnen met de co-schappen.

List of publications

- A. Broeks, L. de Witte, A. Nooijen, A. Huseinovic, J. G. Klijn, F. E. van Leeuwen, N. S. Russell, and L. J. van 't Veer.** 2004. Excess risk for contralateral breast cancer in CHEK2*1100delC germline mutation carriers. *Breast Cancer Research and Treatment* 83:91-93.
- L. de Witte, M. Abt, S. Schneider-Schaulies, Y. van Kooyk, and T. B. H. Geijtenbeek.** 2006. Measles virus targets DC-SIGN to enhance dendritic cell infection. *Journal of Virology* 80:3477-3486.
- L. de Witte, Y. van Kooyk, T. B. H. Geijtenbeek.** 2005. Pathogen interactions with DC-SIGN modulate immune responses: A Toll tale? *Current Immunology Reviews*. 2005 jun; 1(2) 165-173.
- L. de Witte, Y. van Kooyk, T. B. H. Geijtenbeek.** 2006. Dendritic Cell mediated viral transmission: A Potential Drug target? *Future Virology* 1: 615-622.
- L. de Witte, A. Nabatov, M. Pion, D. Fluitsma, M. A.. W. P. de Jong, T. de Gruijl, V. Piguet, Y. van Kooyk, and T. B. H. Geijtenbeek.** 2007. Langerin is a natural barrier to HIV-1 transmission by Langerhans cells. *Nature Medicine* 13:367-371.
- R. L. de Swart, M. Ludlow, L. de Witte, Y. Yanagi, A. G. van, S. McQuaid, S. Yüksel, T. B.H. Geijtenbeek, W. P. Duprex, and A. D. Osterhaus.** 2007. Predominant infection of CD150+ lymphocytes and dendritic cells during measles virus infection of macaques. *PLoS. Pathogens*. 3:e178.
- L. de Witte, Y. Zoughlami, B. Aengeneyndt, G. David, Y. van Kooyk, L. Gissmann, and T. B. H. Geijtenbeek.** 2007. Binding of human papilloma virus L1 virus-like particles to dendritic cells is mediated through heparan sulfates and induces immune activation. *Immunobiology* 212:679-691.
- L. de Witte, M. Bobardt, U. Chatterji, G. Degeest, G. David, T. B. H Geijtenbeek, and P. Gallay.** 2007. Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104:19464-19469.
- L. de Witte., A. Nabatov, and T. B. H. Geijtenbeek.** 2008. Distinct roles for DC-SIGN+-dendritic cells and Langerhans cells in HIV-1 transmission. *Trends in Molecular. Medicine* 14:12-19.
- M. D. Bobardt, G. Cheng, L. de Witte, S. Selvarajah, U. Chatterji, B. E. Sanders-Bear, T. B. H. Geijtenbeek, F. V. Chisari, and P. A. Gallay.** 2008. Hepatitis C virus NS5A anchor peptide disrupts human immunodeficiency virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:5525-5530.
- L. de Witte, R. D. de Vries, M. van der Vlist, S. Yüksel, M. Litjens, R. L. de Swart and T. B. H. Geijtenbeek.** DC-SIGN and CD150 have distinct roles in transmission of measles virus from dendritic cells to T-lymphocytes *PLoS Pathogens*. 4:e49.

L. de Witte, M. A. W. P. de Jong, J. den Dunnen, Y. van Kooyk, and T. B. H. Geijtenbeek. Identification of pathogen receptors on dendritic cells to understand their function and to identify new drug targets. Humana press (*In press*).

L. de Witte, M. A. W. P. de Jong, S. I. Gringhuis, P. Gallay and T. B. H. Geijtenbeek. TNF α and TLR agonists increase susceptibility to HIV-1 transmission by Langerhans cells ex vivo (*manuscript submitted for publication*).

M. A. W. P. de Jong, L. de Witte, A. Bolmstedt, Y. van Kooyk and T. B. H. Geijtenbeek. DC-SIGN enhances herpes simplex virus infection of dendritic cells in cis (*manuscript submitted for publication*).

L. de Witte, M. van der Vlist, R. D. de Vries, M. Litjens, M. A. W. P. de Jong, D. Fluitsma, R. L. de Swart and T. B. H. Geijtenbeek. Langerin captures measles virus for viral clearance and MHC class-II but not cross-presentation (*manuscript submitted for publication*).

L. de Witte, M. Litjens, D. Fluitsma, M. Bouman, Y. van Kooyk, M. van Trotsenburg and T. B. H. Geijtenbeek. Distribution of HIV-1 target cells in male and female genital tissue (*manuscript submitted for publication*).

Dankwoord

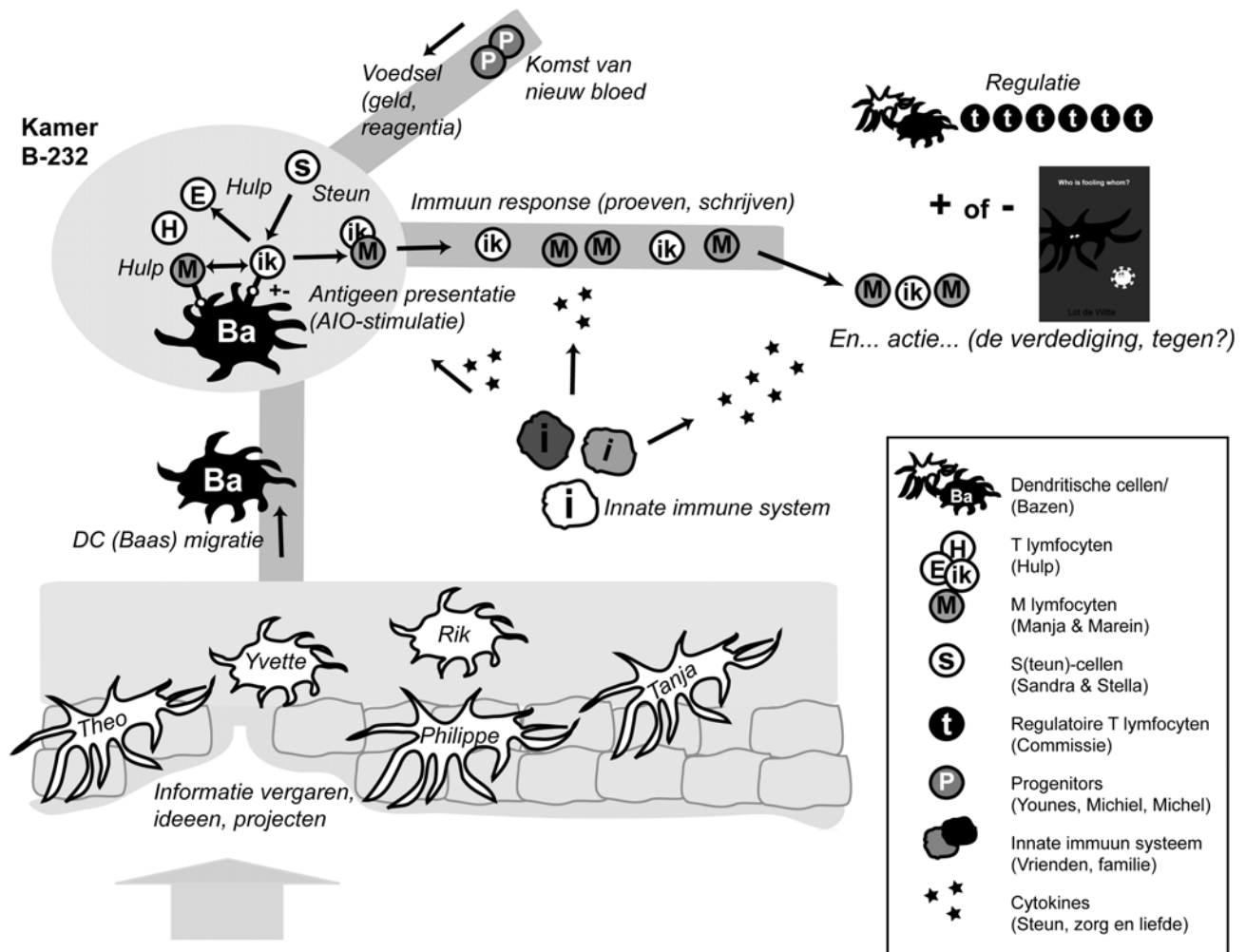


Figure x.
Mijn dank is groot.

(A) **Dendritische cellen:** Dendritische cellen vergaren informatie, filteren wat interessant, nodig en de moeite waard is en geven deze informatie door aan hun soldaten, de lymfocyten (=AIOs). De dendritische cellen stimuleren en activeren, maar kunnen hun soldaten in bepaalde situaties ook remmen. Ze zorgen zo dat de lymfocyten niet op hol slaan, al is dat soms lastig...

Yvette, Theo jullie vervulden in elke zin de functie van dendritische cellen, maar bovenal waren jullie stimulerend! Yvette, bedankt voor de kans die je 'zo'n-geneeskunde-student' hebt gegeven om het basale onderzoek te leren kennen. Jouw open, scherpe blik, positiviteit en bereidheid maken Groep Rood een prettige onderzoeksomgeving. Theo, jij bent een geweldig leermeester geweest de afgelopen vier jaar. Je hebt me veel ruimte en kansen gegeven. We zijn door verschillende fases gegaan, van 's avonds bellen ("En wat kwam eruit?"), 's nachts - met bier - discussiëren over mogelijke nieuwe experimenten, fasen vol spanning en stress over papers, tot een wat meer volwassen situatie, waarin

de zaken soms wel eens op gepaste tijd werden besproken. Ik besef dat ik niet altijd de gemakkelijkste was om te begeleiden: soms was ik koppig, gestrest en veeleisend. Op het laatst zuchtte je bij het nakijken van de toch wat vele hoofdstukken. Iets te veel gestimuleerd? Bedankt voor alles wat je me hebt geleerd, maar ook voor de borrels, je ironie (om niet te zeggen cynisme), de A-B gang burenpmaat, gezelligheid. Wie weet kunnen we ooit weer samenwerken aan de klinische relevantie van één van de door jou te ontdekken receptoren.

De dendritische cellen zijn onder te verdelen in verschillende subtypen. Deze typen vergaren verschillende soorten informatie en activeren of remmen op eigen wijze het immuunsysteem.

It was a great and inspiring opportunity to work with different supervisors from other labs during my PhD. I am very grateful for the patience people took to teach me new techniques, to share reagents, but most of all to discuss and share their ideas. Sybille, Rik, Rory, Selma and Marion, thanks for teaching me the ins-and-outs about measles virus and for all the reagents that we could use. Rik, je hebt verschillende manuscripten op een prettige en grondige manier onder handen genomen. Bedankt. Ik werk momenteel met veel plezier in jouw groep. Philippe, Mike, Udayan, Jeff and Suganya, thanks for the fantastic time in San Diego. It was too short. Philippe, you are an inspiring supervisor, your positivism and the beach-lunches gave a dimension to research that I had not experienced before. Thanks for your willingness to attend my thesis defence. I hope my scientific path will cross yours again in the future. Tanja, Saskia en Rieneke, bedankt voor het helpen opzetten van de Mutz-kweken, de huidexperimenten en voor de discussie. Mick, bedankt voor het gezamenlijk opzetten van de genitale weefselbank en de uitleg over het hoe en wat in de genitaliën. Peter Huijgens en Jeroen Janssen, bedankt voor de begeleiding bij het vinden van een weg naar het onderzoek.

(B) T lymfocyten: *T lymfocyten zijn de ware soldaten van het immuunsysteem. Ze voeren specifieke taken uit maar zijn ook onmisbaar door de hulp die ze anderen aanbieden ...*

Beste paranimfen, bedankt voor alle hulp bij het afronden van mijn manuscript en tijdens de aanloop naar mijn promotie. Bovenal ben ik jullie dankbaar voor jullie ondersteuning gedurende de vier voorgaande jaren, zowel in praktisch als geestelijk opzicht. Manja, bedankt voor alle gesneden coupes, kleuringen, je blik op de wereld, gezelligheid en koffie. Marein, we waren aan het einde een echt LC-team: lachen om huid, samen papers schrijven en discussiëren over de wetenschap. Je oprechte betrokkenheid en steun hebben me erg geholpen op het laatst. Hopelijk kunnen we onze samenwerking blijven doorzetten. Succes met je promotie, je oogst ziet er al veelbelovend uit en met jouw capaciteiten houd je de grond vruchtbaar! Donna, de rust en vriendelijkheid in het domein van de electronen-microscoop waren een verademing om soms naar toe te vluchten. Bedankt voor de ontzettend prachtige plaatjes die je hebt gemaakt en de interesse die je hebt gewekt voor de structuren in cellen op het allerkleinste niveau! Jammer dat je er de laatste maanden niet was, ik hoop dat het je snel beter gaat! Alex, thanks for teaching me the basics of practical HIV work, for your collaboration on the Langerin story and for making HIV-1 stocks. Rob, bedankt voor je hulp bij het regelen voor een plekje voor mij als co-assistent op het VUmc. Colleagues from Group Red, you have helped me a lot during my PhD, by teaching techniques, through practical advice and discussion. I would like to thank the department for the fantastic time, practical help, discussion, 'gezelligheid' and moral support. Good luck to everyone!

(C) Regulatorie T lymfocyten: *Regulatorie T lymfocyten kunnen een respons onderdrukken en hiermee over-activatie of te vroege activatie voorkomen. Ze hebben een controlerende rol in het immuun systeem...*

Dear prof.dr. C.G. Figdor, prof.dr. A.D.M.E. Osterhaus, prof.dr. S. Danner, prof.dr. H. Schuitemaker, dr. T. de Gruijl, dr. P. Gallay and dr. R.L. de Swart, I would like to thank you for the attention you have paid to my manuscript. Fortunately, you were all tolerogenic after reading my thesis. I am grateful to you for taking the time to attend my thesis defence.

(D) Steuncellen. *Elke orgaan en systeem heeft behoefte aan steun...*

Sandra en Stella, kamergenoten op het kleine kamertje B-232, jullie ben ik zeer dankbaar voor alle gezelligheid deze jaren. Stella, de jaren met jou als gezamenlijke buurvrouwen van Theo waren knus en gezellig. Op een gegeven moment stond de bestelling bij DE al klaar! Je droge grapjes ontspanden en je versnaperingen waren soms broodnodig. Leuk dat we nu weer burens zijn. Sandra, jij was een fantastisch kamergenoot, zeker voor iemand die nog moet promoveren. Heel gezellig, altijd bereid om mee te denken over resultaten! Ook heb ik je ervaren als iemand die alles weet: praktisch, over de literatuur en over het promotie-traject. Bedankt voor al je tips en het nakijken van delen van het manuscript.

(E) Voedsel. *Elk systeem heeft behoefte aan brandstof, zuurstof en bouwstoffen...*

Dit werk was onmogelijk geweest zonder de hulp van de Boerhaave kliniek. Jullie hulpvaardigheid is voor ons van grote waarde. Het NWO en de Dr. Saal van Zwanenbergstichting wil ik bedanken voor het financieel ondersteunen van dit onderzoek. I would like to thank the following persons for their valuable reagents: Vincent Piguet for the Langerin constructs, Guido David for the syndecan and HSPG antibodies, Lutz Gissmann for the HPV-L1-VLPs, Anders Bolmstedt for the different HSV reagents, Yusuke Yanagi for the IC323eGFP, Peter O'Hare and George Verjans for the HSV-1 GFP virus, Enno Veerman and Jan Bolscher for the saliva samples and Menno Oudhoff for the Candida.

(F) Progenitors. *Het immuunsysteem rekruteert doorlopend nieuwe krijgers...*

Younes en Michiel, bedankt voor jullie inzet tijdens jullie stageperiode. Jullie harde werken heeft mooie resultaten opgeleverd. Maar vooral wil ik jullie bedanken voor de gezelligheid, de grapjes, het open houden van deuren en de friet-NaCl met Pasen. Succes met jullie AIO-carrières, dat kan niet anders dan goed gaan! Michel, bedankt voor je literatuurstudie over Langerin.

(G) Innate immuunsysteem. *Het innate immuunsysteem is specifiek, maar zeker niet minder belangrijk. Integendeel, het innate immuunsysteem reageert snel en stelt zich robuust en actief op. Het is er als je het nodig hebt en dat kan ontroerend zijn...*

Lieve vrienden, bedankt voor jullie interesse in mijn onderzoek en de afleiding en steun als het te veel werd. In de periode van stijve schouders en stress waren de massages, het gezwets en het lunchen aan de Brouwersgracht wat ik nodig had. Re! Noor en Marly, bedankt voor het nakijken. Lieve Daf, jij bent een grote steun in elke tijd, de laatste avond samen op de VU, ontplofte curry, geld voor taxi, choco-brief, stukken nakijken, ssoftheff. Lieve Matthieu, zonder jou was het laatste jaar veel minder relaxed, veel minder leuk en veel minder mooi geweest! Lieve Katrien, Moniek, Els, Theo en Oma, jullie zorg, liefde en interesse zijn continu, groot en prachtig.