



Universiteit
Leiden
The Netherlands

A plasmodium falciparum sporozoite's journey: through organs and across CD8+ T-cell challenges

Schuijlenburg, R. van

Citation

Schuijlenburg, R. van. (2026, March 12). *A plasmodium falciparum sporozoite's journey: through organs and across CD8+ T-cell challenges*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4296576>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4296576>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Portfolio

During my PhD I gained knowledge into scientific writing, data analysis, independence, critical thinking, and communication skills required to contribute meaningfully to the scientific community.

In the first year of my PhD, I focused on building a comprehensive understanding of the literature and the biology of *Plasmodium falciparum* (Pf) sporozoites (SPZ). I investigated differences in motility, infectivity, and immune activation between young and older Pf SPZ. Through this, I learned a broad range of techniques including confocal microscopy, flow cytometry, parasite culture, and cell culture. I optimized key assays to improve Pf SPZ viability and reduce variability between experiments, which laid the technical groundwork for subsequent projects.

During my second year, I expanded my expertise in co-culture systems and focused on CD8⁺ T-cell biology, particularly CSP-specific CD8⁺ T-cells. After mastering the culturing of these T-cells, I learned to differentiate naïve CD8⁺ T-cells into memory Pf SPZ-specific T-cells *in vitro*. To evaluate the cytotoxic potential of memory CD8⁺ T-cells, I established an *in vitro* Pf hepatocyte killing assay using co-culture of Pf infected hepatocytes and memory CD8⁺ T-cells.

In the third year, I transitioned to *in vivo* studies using *Plasmodium berghei*, which infects mice. I learned how to write detailed work protocols and gained hands-on experience with intravenous, intradermal, subcutaneous, and intraperitoneal administration techniques. I also learned mouse organ dissection and immune cell isolation, which enabled the characterization of immune responses across various tissues. During this time, I successfully developed and optimized a 22-colour flow cytometry panel for comprehensive immune cell profiling and acquired experience in complex data analysis strategies required to interpret such multidimensional datasets.

In the fourth year, I was involved in translating our laboratory findings into human clinical application. I authored the protocols for culturing Pf from the blood stage to sporozoites for clinical trial use. Together with a PhD physician colleague, I helped set up a clinical trial where I oversaw the production and quality of late-arresting genetically attenuated parasites (LA-GAP) and the wild-type infection strain. This work allowed me to expand my leadership skills by coordinating a team of technicians and PhD students responsible for vaccine and challenge material production, immunization and infection.

In my fifth and final year, I further broadened my technical and analytical toolkit. I learned how to collect human dermal skin biopsies, process these for immunohistochemistry (IHC), and began developing a panel for imaging mass cytometry (IMC) to study spatial immune responses. During this final phase, I also significantly expanded my scientific writing skills through thesis and manuscript preparation.

Beyond my own research, I played an active role in supporting the broader scientific community within our team. I provided technical guidance to MSc students and incoming PhD candidates, helping them troubleshoot protocols, design experiments, and interpret data. I regularly gave feedback on experimental design and results presentations and contributed to group discussions with constructive suggestions. Collaborating closely with fellow PhD students, I shared resources, offered feedback on manuscripts and abstracts, and participated in peer training on techniques such as flow cytometry and T-cell assays. These experiences not only strengthened my leadership and mentoring abilities but also enriched our collective scientific output.

Table with followed courses.

Course	When	Progress
PhD introductory	2021	completed
e-BROK	2021	completed
Basic Methods and Reasoning in Biostatistics	2023	completed
Using R for data analysis	2022	completed
Laboratory Animal Science	2022	completed
Advanced Course Infection and Immunity	2023	completed

Dissemination table.

Project	When	Activity	Audience	Purpose	Progress
CSP CD8 ⁺ T-cells	2021-....	Sharing knowledge.	Dr. Valerie Soulard UPMC	Collaboration	On going
Preparation of a clinical human malaria infection model	2022-2023	Writing protocols, time labels, schemes, help with writing IPD.	Clinical malaria research group	Clinical human malaria infection model	Finished
Clinical human malaria infection model	2023-2024	Head of production, training of people.	Clinical malaria research group	Clinical human malaria infection model	Finished
Human skin mosquito bite biopsies	2023-2024	Start setting up IHC/IMC panel and setting up sample preparation and protocols. Imbed and store human skin biopsies from clinical trial. Train new people to continue with the samples.	Clinical malaria research group	Analyzing human dermal immune response after malaria infection	Finished
Mouse malaria challenge model	2023	Help starting up a challenge model in mice.	Clinical malaria research group	Setting up a model for future purposes	Finished
Collaboration research projects in the LUMC	2022-2025	Collaboration and sharing knowledge with other researchers and research groups in the LUMC.	Research groups LUMC	Collaboration	Finished
Conference co-organisator	2024	Co-organisator of the Dutch Malaria Day in Leiden.	Malaria field NL	Sharing knowledge	Finished
Conference oral presentations	2022-2025	NVP, NVVI, Dutch Malaria Day.	Immunology and parasite field	Sharing knowledge	Finished
Conference poster presentations	2023-2024	NVVI, ASTMH.	Immunology and parasite field	Sharing knowledge	Finished
Teaching	2022-2023	IAI Electives, FOS course.	Master students	Sharing knowledge, teaching	Finished
Student guidance	2020-2024	Guidance of 2 bachelor and 2 master students.	Students	Sharing knowledge, teaching	Finished

Credit table.

	Conceptualization	Data curation	Formal analysis	Funding acquisition	Investigation	Methodology	Project administration	Resources	Software	Supervision	Validation	Validation	Writing - original draft	Writing - review & editing
Chapter 1 Introduction														
Chapter 2 Early activation of lung CD8 ⁺ T Cells after immunization with live <i>Plasmodium berghei</i> malaria sporozoites														
Chapter 3 Human <i>Plasmodium falciparum</i> sporozoite effector-memory CD8 ⁺ T cells exhibit CBA epitope-specific activation and display distinct T cell receptor clustering														
Chapter 4 Human circumsporozoite-specific effector-memory CD8 ⁺ T-cells recognize and kill <i>Plasmodium falciparum</i> - infected hepatocytes														
Chapter 5 Ageing of <i>Plasmodium falciparum</i> malaria sporozoites alters their motility, infectivity and reduces immune activation <i>in vitro</i>														
Chapter 6 Intradermal immunization with <i>Plasmodium berghei</i> late-arresting genetically attenuated sporozoites induces PD-L1 expression on regulatory macrophages and dendritic cells														
Chapter 7 Single immunization with genetically attenuated Pfameiz (GA2) parasites by mosquito bite in controlled human malaria infection: a placebo-controlled randomized trial														
Chapter 8 Discussion														



Intensity of workload and responsibility

Curriculum vitae

Roos van Schuijlenburg werd geboren op 30 juni 1993 in Voorburg, en groeide op in Zoetermeer, waar zij de HAVO afrondde. In 2010 begon zij aan de opleiding Hoger Laboratoriumonderwijs (HLO) in Leiden. Als onderdeel van deze opleiding liep zij stage op de afdeling Medische Microbiologie van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC), waar zij betrokken was bij de laboratoriumdiagnostiek. Vervolgens deed zij haar afstudeeronderzoek aan het Erasmus Medisch Centrum (Erasmus MC), waar zij onder begeleiding van prof. dr. Jaap van Hellemond onderzoek deed naar de rol van verschillende Toll-like receptoren tijdens schistosoma-infectie. Na het behalen van haar diploma in 2014 ging zij aan de slag als onderzoeksanalist bij het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) in Bilthoven, onder leiding van dr. Josine van Beek. Daar werkte zij mee aan immunologisch onderzoek naar de effectiviteit van influenzavaccinaties en de infectiegraad tijdens het influenzaseizoen bij ouderen in de Nederlandse bevolking. Tijdens deze periode werd haar interesse in immunologie aangewakkerd, al miste zij de complexiteit van de levenscyclus en het ziekteverloop van parasitaire infecties. In 2018 startte zij daarom als onderzoeksanalist op de afdeling Parasitologie van het LUMC, onder leiding van prof. dr. Meta Roestenberg. Hier kreeg zij de kans om mee te werken aan vaccinonderzoek gericht op schistosoma, mijnwormen en malaria. In 2020 begon zij als promovendus, onder begeleiding van prof. dr. Meta Roestenberg en dr. Blandine Franke-Fayard, met onderzoek naar de immunologische respons na infectie met malaria-sporozoïeten. Het doel van dit onderzoek was om kennis op te doen die bijdraagt aan de ontwikkeling van een effectief malariavaccin. Om haar passie voor immunologisch malariavaccinonderzoek voort te zetten, is zij in 2025 begonnen als postdoctoraal onderzoeker aan de Queensland University in Brisbane, Australië, onder leiding van prof. dr. Denise Doolan. Hier richt zij zich voornamelijk op de immuunrespons tegen specifieke malaria-epitopen.

List of publications

Included in this thesis:

1. **van Schuijlenburg R**, Naar CM, van der Wees S, Chevalley-Maurel SC, Duszenko N, de Bes-Roeleveld HM, Iliopoulou E, Houlder EL, Geurten FJA, Baalbergen E, Roestenberg M, Franke-Fayard B. Early Activation of Lung CD8(+) T Cells After Immunization with Live *Plasmodium berghei* Malaria Sporozoites. *Pathog Immun.* 2025;10(2):46-68. Epub 20250304. doi: 10.20411/pai.v10i2.794.
2. **van Schuijlenburg R**, Azargoshasb S, de Korne CM, Sijtsma JC, Bezemer S, van der Ham AJ, Baalbergen E, Geurten F, de Bes-Roeleveld LM, Chevalley-Maurel SC, van Oosterom MN, van Leeuwen FWB, Franke-Fayard B, Roestenberg M. Ageing of *Plasmodium falciparum* malaria sporozoites alters their motility, infectivity and reduces immune activation in vitro. *Malar J.* 2024;23(1):111. Epub 20240419. doi: 10.1186/s12936-024-04946-7.
3. **van Schuijlenburg R**, Naar CM, de Bes-Roeleveld HM, Chevalley-Maurel S, Houlder EL, Lambooi JM, Baalbergen E, Roestenberg M, Franke-Fayard B. Intradermal immunization with *Plasmodium berghei* late-arresting genetically attenuated sporozoites induces PD-L1 expression on regulatory macrophages and dendritic cells. *Sci Rep.* 2025;15(1):43673. doi: 10.1038/s41598-025-27588-4.
4. Roozen GVT, **van Schuijlenburg R**, Hensen ADO, Koopman JPR, Lamers OAC, Geurten FJA, Sijtsma JC, Baalbergen E, Janse JJ, Chevalley-Maurel S, Naar CM, Bezemer S, Kroeze H, van de Stadt HJF, de Visser B, Meij P, Tihaya MS, Colstrup E, Iliopoulou E, de Bes-Roeleveld HM, Wessels E, van der Stoep M, Janse CJ, Murugan R, Franke-Fayard BMD, Roestenberg M. Single immunization with genetically attenuated *PfΔmei2* (GA2) parasites by mosquito bite in controlled human malaria infection: a placebo-controlled randomized trial. *Nat Med.* 2025;31(1):218-22. Epub 20250103. doi: 10.1038/s41591-024-03347-2.

Not included in this thesis:

5. Naar CM, **van Schuijlenburg R**, van Meerbeek M, Almeida L, van Leeuwen FWB, Roestenberg M. A Trojan horse: Chemical boosting of *Plasmodium falciparum* whole sporozoite vaccine immunogenicity. *Biomed Pharmacother.* 2025;192:118666. doi: 10.1016/j.biopha.2025.118666
6. Duzenko N, **van Schuijlenburg R**, Chevalley-Maurel S, van Willigen DM, de Bes-Roeleveld L, van der Wees S, Naar C, Baalbergen E, Heieis G, Bunschoten A, Velders AH, Franke-Fayard B, van Leeuwen FWB, Roestenberg M. Chemically augmented malaria sporozoites display an altered immunogenic profile. *Front Immunol.* 2023;14:1204606. Epub 20230831. doi: 10.3389/fimmu.2023.1204606.
7. van der Plas JL, Kuiper VP, Bagchus WM, Bodding M, Yalkinoglu O, Tappert A, Seitzinger A, Spangenberg T, Bezuidenhout D, Wilkins J, Oeuvray C, Dhingra SK, Thathy V, Fidock DA, Smidt LCA, Roozen GVT, Koopman JPR, Lamers OAC, Sijtsma J, **van Schuijlenburg R**, Wessels E, Meij P, Kamerling IMC, Roestenberg M, Khandelwal A. Causal chemoprophylactic activity of cabamiquine against *Plasmodium falciparum* in a controlled human malaria infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled study in the Netherlands. *Lancet Infect Dis.* 2023;23(10):1164-74. Epub 20230703. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00212-8.
8. Hoogerwerf MA, Janse JJ, Kuiper VP, **van Schuijlenburg R**, Kruize YC, Sijtsma JC, Nosoh BA, Koopman JR, Verbeek-Menken PH, Westra IM, Meij P, Brienens EA, Visser LG, van Lieshout L, Jochems SP, Yazdanbakhsh M, Roestenberg M. Protective efficacy of short-term infection with *Necator americanus* hookworm larvae in healthy volunteers in the Netherlands: a single-centre, placebo-controlled, randomised, controlled, phase 1 trial. *Lancet Microbe.* 2023;4(12):e1024-e34. doi: 10.1016/S2666-5247(23)00218-5.
9. de Korne CM, **van Schuijlenburg R**, Sijtsma JC, de Bes HM, Baalbergen E, Azargoshasb S, van Oosterom MN, McCall MBB, van Leeuwen FWB, Roestenberg M. Sporozoite motility as a quantitative readout for anti-CSP antibody inhibition. *Sci Rep.* 2022;12(1):17194. Epub 20221013. doi: 10.1038/s41598-022-22154-8.

10. Hoogerwerf MA, Koopman JPR, Janse JJ, Langenberg MCC, **van Schuijlenburg R**, Kruize YCM, Brienens EAT, Manurung MD, Verbeek-Menken P, van der Beek MT, Westra IM, Meij P, Visser LG, van Lieshout L, de Vlas SJ, Yazdanbakhsh M, Coffeng LE, Roestenberg M. A Randomized Controlled Trial to Investigate Safety and Variability of Egg Excretion After Repeated Controlled Human Hookworm Infection. *J Infect Dis.* 2021;223(5):905-13. doi: 10.1093/infdis/jiaa414.
11. van den Berg SPH, Lanfermeijer J, Jacobi RHJ, Hendriks M, Vos M, **van Schuijlenburg R**, Nanlohy NM, Borghans JAM, van Beek J, van Baarle D, de Wit J. Latent CMV Infection Is Associated With Lower Influenza Virus-Specific Memory T-Cell Frequencies, but Not With an Impaired T-Cell Response to Acute Influenza Virus Infection. *Front Immunol.* 2021;12:663664. Epub 20210505. doi: 10.3389/fimmu.2021.663664.
12. Winkel BMF, Pelgrom LR, **van Schuijlenburg R**, Baalbergen E, Ganesh MS, Gerritsma H, de Korne CM, Duszenko N, Langenberg MCC, Chevalley-Maurel SC, Smits HH, de Jong EC, Everts B, Franke-Fayard B, Roestenberg M. Plasmodium sporozoites induce regulatory macrophages. *PLoS Pathog.* 2020;16(9):e1008799. Epub 20200908. doi: 10.1371/journal.ppat.1008799.
13. Langenberg MCC, Hoogerwerf MA, Koopman JPR, Janse JJ, Kos-van Oosterhoud J, Feijt C, Jochems SP, de Dood CJ, **van Schuijlenburg R**, Ozir-Fazalalikhan A, Manurung MD, Sartono E, van der Beek MT, Winkel BMF, Verbeek-Menken PH, Stam KA, van Leeuwen FWB, Meij P, van Diepen A, van Lieshout L, van Dam GJ, Corstjens P, Hokke CH, Yazdanbakhsh M, Visser LG, Roestenberg M. A controlled human Schistosoma mansoni infection model to advance novel drugs, vaccines and diagnostics. *Nat Med.* 2020;26(3):326-32. Epub 20200217. doi: 10.1038/s41591-020-0759-x.
14. Duszenko N, van Willigen DM, Welling MM, de Korne CM, **van Schuijlenburg R**, Winkel BMF, van Leeuwen FWB, Roestenberg M. A Supramolecular Platform Technology for Bacterial Cell Surface Modification. *ACS Infect Dis.* 2020;6(7):1734-44. Epub 20200515. doi: 10.1021/acsinfectdis.9b00523.

15. Casacuberta-Partal M, Janse JJ, **van Schuijlenburg R**, de Vries JJC, Erkens MAA, Suijk K, van Aalst M, Maas JJ, Grobusch MP, van Genderen PJJ, de Dood C, Corstjens P, van Dam GJ, van Lieshout L, Roestenberg M. Antigen-based diagnosis of *Schistosoma* infection in travellers: a prospective study. *J Travel Med.* 2020;27(4). doi: 10.1093/jtm/taaa055.

16. Miyazaki Y, Marin-Mogollon C, Imai T, Mendes AM, van der Laak R, Sturm A, Geurten FJA, Miyazaki S, Chevalley-Maurel S, Ramesar J, Kolli SK, Kroeze H, **van Schuijlenburg R**, Salman AM, Wilder BK, Reyes-Sandoval A, Dechering KJ, Prudencio M, Janse CJ, Khan SM, Franke-Fayard B. Generation of a Genetically Modified Chimeric *Plasmodium falciparum* Parasite Expressing *Plasmodium vivax* Circumsporozoite Protein for Malaria Vaccine Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:591046. Epub 20201217. doi: 10.3389/fcimb.2020.591046.

17. Langenberg MCC, Hoogerwerf MA, Janse JJ, van Dam GJ, van Diepen A, de Dood CJ, Feijt C, Ganesh MS, Gerritsma H, Hardeman G, Hokke CH, Koopman JPR, Kos van Oosterhoud J, Kruize YCM, Meij P, Ozir-Fazalalikhan A, **van Schuijlenburg R**, Smits HH, Verbeek-Menken PH, Visser LG, de Vries JJC, Winkel BMF, Yazdanbakhsh M, van Lieshout L, Corstjens P, Roestenberg M. Katayama Syndrome Without *Schistosoma mansoni* Eggs. *Ann Intern Med.* 2019;170(10):732-3. doi: 10.7326/L18-0438

Acknowledgements

Acknowledgements

It is not about the destination or the journey, it's about the company.

Vele handen maken licht werk en zonder alle extra handen (en hersencellen) was het nooit zo ver gekomen. Daarom wil ik iedereen enorm bedanken die mij de afgelopen jaren gesteund heeft.

Meta, een PhD beginnen zonder master is niet vanzelfsprekend, bedankt voor alle fantastische kansen die jij me hebt gegeven. Jouw onuitputtelijke enthousiasme, passie, managementstijl en mensenkennis zijn voor mij een grote inspiratiebron.

Blandine, having an office door without having an office door is truly impressive, I learned a lot from your critical view, interpretations, and science in general. Thank you for your patience, being a *luisterend oor* and guidance along the way.

Ik kon me geen fijnere, slimmere en passievollere begeleiders wensen.

Yavanna, deze achtbaan van fantastische data en onverwachte tegenvallers zou zonder jou maar een saaie en eenzame rit zijn geweest. Jij zat altijd naast me in de voorste wagon, om te juichen bij een eerste paper, maar ook om een reep chocola te delen wanneer het even tegenzat. Jouw steun, humor en vriendschap maken alles lichter, mooier en draaglijker. Ik weet oprecht niet hoe ik dit zonder jou had gedaan.

Chanel, wat begon als student groeide uit tot collega en vriendin. Jouw enthousiasme, energie, behulpzaamheid en warme chocolademelk-momentjes zal ik nooit vergeten. En hoe jammer het ook is om elkaar niet meer op werk te zien, des te leuker is het om elkaar daarbuiten weer te zien.

Miriam, I will never forget the amazing time as colleagues and friends, nor our wonderful weekend trips in Sweden. I learned so much from you about enjoying life and celebrating it with friends. Your warmth and kindness are truly special.

It would never have been possible without the magic hands and brains of Jeroen, Els, Severine, Sascha, Catherin, Vincent, Laura B, Annie, Geert, Olivia, Fijs, Samaneh, Gopal, Annefleur, Jai, Chris, Eva, Jelte, Krista, Eileen, Pauline, Ramon, Mara, Petra, Mirte, Laura P, and Lili. Een afdeling functioneert niet zonder ruggengraat en gezelligheid, Yvonne, Arifa, Hans, Alwin, Miranda, Jantien, Suzanne en Laurine, bedankt dat ik altijd bij jullie

terecht kon met vragen. Clarize, Cynthia, Eveline, Jacq, Koen, Leonard, Paula, Marije, Marijke en Marie-Astrid, bedankt voor de gezelligheid. Bea, bedankt dat je mij kennis hebt laten maken met de mooie wereld van CD8⁺ T-cellen. Emma and Rike, you are amazing scientists, colleagues, and friends with “een hart op de juiste plek”. JP, de vrijdag met jou op T4 was altijd het leukste moment van de week. Bedankt dat je mijn dans-, bubble tea-, songfestival-partner in crime wilde zijn. Dennis en Fiona, bij sommige mensen voelt het na één seconde al bijzonder vertrouwd. Ron, Bruno, Bart, Wesley and Danny, thank you for your scientific input and for letting me try to keep up with you on the bike. Nikolas, Graham, Thiago, Luis, Joost and Eline, thank you for your advice and fun talks in L4-66, but most of all for the BBQs and sailing trips. Angela, Sohreh, Maaïke, Eunice, Abena, Michel, Maria, Hermelijn and Marion, I always enjoyed the small talks in the hallway and at borrels. Thanks to my amazing roomies at T4 and T5, I couldn't have asked for better. Thank you all PARA/LUCID members for the scientific discussions, borrels, outings and great hallway conversations.

Ronald en Marion, bedankt voor jullie gezelligheid en voor het leren hoe je echt goed pipetteert. Marjon, Yuri, Jochem, Cindy, Marieke, Linda, Tim, Rai, Vincent en alle Bodyrockers, bedankt voor de sportieve afleidingen, uitdagingen en gezelligheid, soms is de fysieke uitdaging heel hard nodig. Alex and Paul, I will never forget the windy route to Vlissingen. Michelle aka Connie, van studenten naar een supervriendschap, bedankt voor alle sushi-bijklats momenten en uitjes. Merle, jouw enthousiasme en nuchterheid in combinatie met twee topvakanties zal ik nooit vergeten. Nicole, je hoeft elkaar niet vaak te zien, de momenten waarop je elkaar spreekt zijn wat telt. Tessa, Marco en George, in dezelfde wereld, maar toch een vriendschap die daar niets mee te maken heeft. Bijzonder hoe jullie altijd voor iedereen klaarstaan. Sander en Lily, derde kerstdag zal altijd blijven bestaan.

Pap en Wietske, bedankt voor jullie steun. Het gevoel dat er altijd iemand voor je klaar staat, is enorm fijn. Daarnaast is afleiding soms alles wat je nodig hebt samen met Koen, Marieke, Daphne en Maurice, bedankt voor de leuke uitjes en vakanties samen. Tante Tineke en oom Hans, ook al was het niet altijd even makkelijk, bedankt dat jullie me hebben laten zien hoe het ook kan. Jullie hebben een bijzonder plekje in mijn hart.

Boo, bij jou voel ik me thuis, moet ik om jou soms heel hard lachen en herinner jij me eraan dat het soms goed is om op tijd naar huis te gaan.

When work becomes a hobby, and colleagues become friends.