

Patient material: 6 Na-heparine tubes with 9 ml

1. Take 100 ul whole blood for trucount (see protocol 'measure trucount')
2. Spin tubes 5 minutes at 1500 rpm
3. Transfer the plasma to CryoTube vials (6x1,5ml) and freeze the plasma at -80°C
4. Collect the blood in T75 flask or 50 ml tubes and dilute 1:1 with PBS
5. Fill 50 ml tubes with 15 ml Ficoll-Paque Plus
6. Gently pipette 25 ml of the diluted cell suspension on top of each 15 ml Ficoll-Paque Plus
7. Spin 20 minutes at 2400 rpm. Without acceleration and brake!!
8. Transfer the white blood cell ring fraction to a new 50 ml tube. Combine 2 rings into one 50 ml tube.
9. Add PBS up to 50 ml per tube
10. Spin 7 minutes at 1800 rpm
11. Discard the supernatant
12. Wash the pellet with PBS and spin 8 min at 1100 rpm (repeat this 3x)
13. Resuspend the pellet in PBS
14. Count the cells in Türk solution
15. Freeze PBMCs in CryoTube vials (~5-10 mio/vial):
 - add freezing medium (90%FCS (filtered), 10% DMSO) dropwise
 - leave the vials 20 min on ice and put them in Mr. Frosty (isopropanol tanks) and store at -80°C
 - transfer the vials in liquid nitrogen the next day

Vandaag is de 2de infusie ongecompliceerd verlopen.
graag ontvangen wij het evaluatie formulier.

In het protocol is opgenomen dat de patient een consolidatie gift krijgt 1 maand na de laatste infusie, omdat bij meer dan 50% van de patienten met een acute GVHD van darm een steroid sensitive relapse krijgen.

Ook dit zullen wij voor de patiente inplannen.

In de studie wordt erop dag 14, maand 1 t/m 12 bloed 6 Na-heparine (9ml) afgenomen voor nadere analyse tzt.

Zouden jullie dit willen doen volgens het bijgevoegde protocol.

keuze is het bij jullie tijdelijk op te slaan of te verzenden naar het lab van Jurgen Kuball.

T=0 2de infusie

Dag + 3 na MSC (2) infusie

Dag+7 na MSC (2) infusie

Dag +10 na MSC (2) infusie

T=0 3de infusie [datum en tijdstip volgen](#)

Dag + 3 na MSC (3) infusie

Dag+7 na MSC (3) infusie

Dag +10 na MSC (3) infusie

Dag + 14 na MSC (3) infusie

Week 3 na MSC (3) infusie

Week 4 na MSC (3) infusie [4de gift; consolidatie; datum en tijdstip volgen](#)

Maand 2 na MSC (3) infusie

Maand 3 na MSC (3) infusie

Maand 4 na MSC (3) infusie

Maand 5 na MSC (3) infusie

Maand 6 na MSC (3) infusie

Maand 9 na MSC (3) infusie

Maand 12 na MSC (3) infusie

gr Liane te Boome