

CAPÍTULO REIVINDICATORIO

1. Un método *in vitro* para identificar células progenitoras óticas humanas en una población mixta de células que comprende determinar si una célula tiene al menos dos marcadores de superficie celular seleccionados de SSEA1, GD3, TRA-2-49, SSEA4, GD2 y CD141.
2. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado además porque los marcadores celulares SSEA1, GD3, TRA-2-49, SSEA4 y GD2 son marcadores celulares positivos.
3. El método de conformidad con la Reivindicación 1 o la Reivindicación 2, caracterizado además porque el marcador celular CD141 es un marcador celular negativo.
4. El método de conformidad con la Reivindicación 2 o 3, caracterizado además porque al menos dos marcadores celulares positivos se usan en combinación para identificar progenitores óticos humanos.
5. El método de conformidad con la Reivindicación 2 o 3, caracterizado además porque al menos tres, cuatro o cinco marcadores celulares positivos se usan en combinación para identificar progenitores óticos humanos.
6. El método de conformidad con cualquier Reivindicación anterior, caracterizado además porque se usa un marcador celular positivo, o al menos dos marcadores celulares positivos en combinación con el marcador celular negativo CD141.
7. El método de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado además porque la población mixta de células se proporciona a partir de, o durante, un protocolo de diferenciación de células madre pluripotentes *in vitro*, opcionalmente en donde las células madre pluripotentes son células madre pluripotentes inducidas (iPSC); o
en donde la población mixta de células se proporciona a partir de, o durante, los procedimientos de des-diferenciación, diferenciación trans o reprogramación directa en linajes de células óticas humanas;

o en donde la población mixta de células se proporciona a partir de tejido, opcionalmente en donde las células son muestras cocleares o vestibulares obtenidas de intervenciones quirúrgicas de oídos internos adultos.

8. El método de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado además porque la población mixta de células se pone en contacto con uno o más miembros de unión dispuestos para unirse a los marcadores celulares.

9. El método de conformidad con la Reivindicación 8, caracterizado además porque el miembro de unión comprende un anticuerpo, fragmento de anticuerpo o un mimético del mismo.

10. El método de conformidad con cualquier reivindicación anterior, caracterizado además porque comprende un paso de detección, en donde los marcadores celulares se detectan como presentes o no presentes en una célula o grupo de células.

11. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 8 a 10, caracterizado además porque el miembro de unión está etiquetado para identificación.

12. El método de conformidad con la Reivindicación 11, caracterizado además porque la etiqueta comprende un fluoróforo.

13. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 10 a 12, caracterizado además porque la detección comprende el uso de FACS y/o el uso de MACS.

14. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 13,, en donde el método comprende:

- proporcionar miembros de unión específicos para al menos dos marcadores celulares diferentes;
- contactar la población mixta de células con los miembros de unión; y
- detectar la unión o no unión de los miembros de unión a células en la población mixta de células.

15. El método de conformidad con la Reivindicación 14, caracterizado además porque el método comprende además la determinación de que una célula es una célula progenitora ótica humana si:

a) los miembros de unión dispuestos para unirse a los marcadores celulares positivos se unen a al menos dos marcadores celulares positivos diferentes en la célula; o

b) un miembro de unión dispuesto para unirse a uno de los marcadores celulares positivos se une a al menos uno de los marcadores celulares positivos en la célula, y un marcador de unión dispuesto para unirse al marcador de células negativo CD141 no se une a la célula.

16. El método de conformidad con la Reivindicación 14, caracterizado además porque el método comprende además la determinación de que una célula es una célula progenitora ótica humana si

a) los miembros de unión dispuestos para unirse a los marcadores celulares positivos se unen a al menos tres marcadores celulares positivos diferentes en la célula; o

b) los miembros de unión dispuestos para unirse a al menos dos marcadores de células positivos diferentes se unen a los al menos dos marcadores de células positivos diferentes en la célula, y un marcador de unión dispuesto para unirse al marcador de células negativo CD141 no se une a la célula.

17. Un método *in vitro* para enriquecer células progenitoras óticas humanas a partir de una población mixta de células, el método comprende:

- identificar las células progenitoras óticas humanas de acuerdo con el método de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 16; y

- clasificar las células de modo que las células progenitoras óticas humanas se aislen de las células progenitoras no óticas, de manera que las células progenitoras óticas humanas se enriquezcan en la población.

18. El método de conformidad con la Reivindicación 17, caracterizado además porque la clasificación comprende FACS y/o comprende MACS.

19. Un método *in vitro* para producir una población de células progenitoras óticas humanas, que comprende:

- diferenciar las células progenitoras no óticas en células progenitoras óticas humanas, por lo que algunas células progenitoras no óticas pueden permanecer en la población para formar una población mixta de células; y

- enriquecer las células progenitoras óticas humanas de la población mixta de células de acuerdo con el método de las Reivindicaciones 17 o 18.

20. Un kit para la identificación y/o aislamiento de células progenitoras óticas que comprende al menos dos miembros de unión diferentes, en donde los miembros de unión están dispuestos para unirse a diferentes marcadores celulares seleccionados entre SSEA1, GD3, TRA-2-49, SSEA4, GD2 y CD141.

21. El kit de conformidad con la Reivindicación 20, caracterizado además porque el kit comprende al menos tres miembros de unión diferentes, en donde los miembros de unión están dispuestos para unirse a diferentes marcadores celulares seleccionados de SSEA1, GD3, TRA-2-49, SSEA4, GD2 y CD141.

22. El kit de conformidad con la Reivindicación 20 o 21, caracterizado además porque el kit comprende un panel de miembros de unión, en donde el panel de miembros de unión comprende un miembro de unión específico para cada uno de los marcadores celulares de SSEA1, GD3, TRA-2-49, SSEA4, GD2 y CD141.

23. El kit de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 20 a 22, caracterizado además porque los miembros de unión son anticuerpos, y opcionalmente en donde los anticuerpos están marcados.