

REIVINDICACIONES

1. Un método para producir o cultivar células de la cresta neural y mantener o extender su multipotencia, que comprende los pasos de:

(1) obtener células de la cresta neural por inducción de la diferenciación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) en las células de la cresta neural, en donde las células de la cresta neural no son obtenidas por la manipulación de embriones humanos; y

(2) someter a cultivo por suspensión a las células de la cresta neural por un periodo de 35 días o más en un medio que comprende un inhibidor de GSK3 β y un factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF),

en donde el medio comprende:

(a) el inhibidor de GSK3 β con una concentración que exhibe un efecto equivalente al exhibido por CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M, en donde el efecto se evalúa en función de la actividad inhibitoria de GSK3 β ; o

(b) CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M; o

(c) CP21R7 con una concentración de 0,5 μ M o superior y 1 μ M o inferior; y

en donde el medio comprende bFGF con una concentración de 10 a 200 ng/mL.

2. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio comprende, además, un inhibidor de TGF β con una concentración de 1 a 50 μ M.

3. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio es un medio químicamente definido.

4. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio comprende, además, un factor de crecimiento epidérmico.

5. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde, en el medio que comprende (a), el inhibidor de GSK3 β es CHIR99021, CP21R7, CHIR98014, LY2090314, kenpaullona, AR-AO144-18, TDZD-8, SB216763, BIO, TWS-119, o SB415286.

6. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 5, en donde el inhibidor de GSK3 β es CHIR99021.

7. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 2, en donde el inhibidor de TGF β es SB431542, A83-01, LDN193189, Wnt3a/BIO, BMP4, GW788388, SM16, IN-1130, GW6604, o SB505124.

8. El método de producción de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde, en el paso (2), las células de la cresta neural se subcultivan cada 5 a 8 días después de la inoculación.

9. Un método para proliferar células de la cresta neural y mantener su multipotencia, que comprende el paso de:

(1) someter a cultivo por suspensión a las células de la cresta neural por un periodo de 35 días o más en un medio que comprende un inhibidor de GSK3 β y un factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), en donde el medio comprende:

(a) el inhibidor de GSK3 β con una concentración que exhibe un efecto equivalente al exhibido por CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M, en donde el efecto se evalúa en función de la actividad inhibitoria de GSK3 β ; o

(b) CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M; o

(c) CP21R7 con una concentración de 0,5 μ M o superior y 1 μ M o inferior;

en donde el medio comprende bFGF con una concentración de 10 a 200 ng/mL, y

en donde las células de la cresta neural no son obtenidas por la manipulación de embriones humanos.

10. Un medio para producir y proliferar células de la cresta neural por un periodo de 35 días o más que comprende un inhibidor de GSK3 β , un factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF) con una concentración de 10 a 200 ng/ml y células de la cresta neural, en donde el medio comprende:

(a) el inhibidor de GSK3 β con una concentración que exhibe un efecto equivalente al exhibido por CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M, en donde el efecto se evalúa en función de la actividad inhibitoria de GSK3 β ,

(b) CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M; o

(c) CP21R7 con una concentración de 0,5 μ M o superior y 1 μ M o inferior.

11. El medio de acuerdo con la Reivindicación 10, que comprende, además, un inhibidor de TGF β con una concentración de 1 a 50 μ M.

12. El medio de acuerdo con la Reivindicación 10, en donde el medio es un medio químicamente definido.
13. El medio de acuerdo con la Reivindicación 10, que comprende, además, un factor de crecimiento epidérmico con una concentración de 5 a 100 ng/mL.
14. El medio de acuerdo con la Reivindicación 10, en donde, en el medio que comprende (a), el inhibidor de GSK3 β es CHIR99021, CP21R7, CHIR98014, LY2090314, kenpaullona, AR-AO144-18, TDZD-8, SB216763, BIO, TWS-119 o SB415286.
15. El medio de acuerdo con la Reivindicación 14, en donde el inhibidor de GSK3 β es CHIR99021.
16. El medio de acuerdo con la Reivindicación 11, en donde el inhibidor de TGF β es SB431542, A83-01, LDN193189, Wnt3a/BIO, BMP4, GW788388, SM16, IN-1130, GW6604 o SB505124.
17. Un método de producción de células nerviosas, células gliales, células del estroma mesenquimal, células óseas, condrocitos, células corneales o células pigmentarias, que comprende los pasos de:
- (i) someter a cultivo por suspensión a las células de la cresta neural, obtenidas por inducción de la diferenciación de células madre pluripotentes inducidas (iPSC) en las células de la cresta neural, por un periodo de 35 días o más en un medio que comprende un inhibidor de GSK3 β y un factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), en donde el medio comprende:
 - (a) el inhibidor de GSK3 β con una concentración que exhibe un efecto equivalente al exhibido por CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M, en donde el efecto se evalúa en función de la actividad inhibitoria de GSK3 β ,
 - (b) CHIR99021 con una concentración de 2 μ M o superior e inferior a 5 μ M; o
 - (c) CP21R7 con una concentración de 0,5 μ M o superior y 1 μ M o inferior; y en donde el medio comprende bFGF con una concentración de 10 a 200 ng/mL; y
 - (ii) diferenciar las células de la cresta neural obtenidas en el paso (i) en células de al menos un linaje seleccionado del grupo que consiste en células nerviosas, células gliales, células del estroma mesenquimal, células óseas, condrocitos, células corneales y células pigmentarias;

en donde las células de la cresta neural no son obtenidas por la manipulación de embriones humanos.