

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables, y separar dichas células, que comprende las etapas de:
 - a) incubar durante 12 a 24 horas en una superficie o compartimento haptotáctico una solución de adhesión;
 - b) agregar en un compartimiento quimiotáctico un buffer de migración que comprende un agente quimiotáctico que incluye un medio condicionado obtenido de un cultivo de hasta 24 horas, de células estromales mesenquimales expandidas en tercer, y hasta sexto pase,
 - c) suspender la fase celular de una fuente de CPH en un buffer de migración e incubarla en un compartimiento celular por entre 2 y 5 horas a 37°C con una atmósfera entre 3 y 5% de CO₂;
 - d) recolectar el contenido del compartimiento quimiotáctico y contabilizar las células registradas, mediante la técnica de citometría de flujo;
 - e) calcular la migración celular como los eventos inducidos recolectados en el compartimiento quimiotáctico con medio condicionado de células estromales mesenquimales, en relación a los eventos de migración basal;en donde el compartimiento celular está separado del compartimiento quimiotáctico a través de la superficie o compartimiento de haptotáctico; y
en donde el compartimiento celular y el compartimiento quimiotáctico están comunicados por medio de una solución de continuidad que comprende un gradiente quimiotáctico.
2. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio condicionado de cultivo de células estromales mesenquimales comprende una mezcla de agentes que incluye Eotaxina, HGF, IL-6, IL8, MCP-1, VEGF-1 y G-CSF.
3. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la solución de adhesión comprende moléculas de adhesión seleccionadas entre molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), laminina, fibronectina, colágeno y mezclas de las mismas.
4. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en donde la concentración de las moléculas

de adhesión es del orden de $\mu\text{g/ml}$.

5. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en donde la solución de adhesión comprende además buffer fosfato salino (PBS) 1X.
6. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio condicionado se produce del cultivo de células estromales mesenquimales expandidas durante 24 h en medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) o Roswell Park Memorial Institute (RPMI) libre de suero.
7. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el buffer de migración comprende agentes quimiotácticos adicionales seleccionados de: factor derivado de células estromales-1 (CXCL12 o SDF-1), factor de células madre (SCF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), ligando de tirosina quinasa 3 tipo FMS (FLT3L), ligando de quimiocina 2 (CCL-2), trombopoyetina (TPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).
8. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el buffer de migración comprende medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) y albúmina sérica bovina (BSA) o albúmina sérica humana (HSA).
9. El método de acuerdo con la Reivindicación 8, en donde el BSA o HSA están en una concentración entre 1 y 3 % en el medio RPMI.
