【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】令和7年3月27日(2025.3.27)

【国際公開番号】WO2022/204155
【公表番号】特表2024-511414(P2024-511414A)
【公表日】令和6年3月13日(2024.3.13)
【年通号数】公開公報(特許)2024-047
【出願番号】特願2023-558138(P2023-558138)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ 15/09(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 5/10(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/12(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/55(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 15/62(2006.01)
Ｃ１２Ｎ 9/16(2006.01)
Ｃ０７Ｋ 19/00(2006.01)
Ａ６１Ｋ 48/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 35/00(2006.01)
Ａ６１Ｐ 35/04(2006.01)
Ａ６１Ｋ 35/17(2025.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ 15/09 １００
Ｃ１２Ｎ 5/10 ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ 15/12
Ｃ１２Ｎ 15/55
Ｃ１２Ｎ 15/62 Ｚ
Ｃ１２Ｎ 9/16 Ｚ
Ｃ０７Ｋ 19/00
Ａ６１Ｋ 48/00
Ａ６１Ｐ 35/00
Ａ６１Ｐ 35/04
Ａ６１Ｋ 35/17

【手続補正書】
【提出日】令和7年3月18日(2025.3.18)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ＣＩＳＨ及び任意選択でＰＤ－１の低減された発現を含む、遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を調製する方法であって、
（ａ）ＣＩＳＨをコードする遺伝子をＤＮＡ切断によって選択的に不活性化することができる１つ以上の第１の転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥヌクレアーゼ）をコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入することであって、前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１７５の核酸配列を対象とするＴＡＬＥヌクレアーゼを含む、前記導入すること、及び任意選択で、ＰＤ－１をコードする遺伝子を

ＤＮＡ切断することによって選択的に不活性化することができる１つ以上の第２のＴＡＬＥヌクレアーゼを導入することと、
（ｂ）前記ＴＩＬを拡張することと、を含む、前記方法。
【請求項２】
（ａ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする核酸（複数可）を前記ＴＩＬ内に導入することが、エレクトロポレーションステップを含む、
（ｂ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする前記核酸（複数可）がＲＮＡであり、前記ＲＮＡがエレクトロポレーションによって前記ＴＩＬに導入される、
（ｃ）前記方法が、前記導入するステップの前に、前記ＴＩＬをＯＫＴ－３の存在下、細胞培養培地中で約１～３日間培養することによって、前記ＴＩＬを活性化するステップをさらに含む、
（ｄ）前記方法が、前記導入するステップの後、及び前記拡張するステップの前に、ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で前記ＴＩＬを約１日間静置するステップをさらに含み、任意選択で前記静置するステップにおける前記ＩＬ－２が約３０００ＩＵ／ｍｌの濃度である、又は、
（ｅ）前記方法が、前記導入するステップの前に、前記ＴＩＬを凍結保存し、その後、解凍し、前記ＴＩＬを、ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で約１～３日間培養するステップをさらに含む、
請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、それぞれ、第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼによって構成され、
任意選択で、前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、第１のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合した第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインで構成される第１の融合タンパク質であり、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、第２のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合した第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインで構成される第２の融合タンパク質であり、
さらに任意選択で、前記第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが、第１のアミノ酸配列を有し、前記第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが、第２のアミノ酸配列を有し、前記第１のアミノ酸配列が、前記第２のアミノ酸配列とは異なる、
請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第１のアミノ酸配列を有し、前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第２のアミノ酸配列を有し、前記第１のアミノ酸配列が、前記第２のアミノ酸配列と同じであり、
任意選択で、
（ａ）前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメイン及び前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインが、両方とも、Ｆｏｋ－Ｉのアミノ酸配列を有する、
（ｂ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、ヘテロ二量体ＤＮＡ切断複合体を形成して、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子内の前記標的部位でＤＮＡ切断を行うことができ、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子内の前記標的部位が、配列番号１７５の核酸配列を含む、
（ｃ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子の前記標的部位内の第１の位置に位置する第１の半分の標的を認識し、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記第１の位置と重複しない前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子の前記標的部位内の第２の位置に位置する第２の半分の標的を認識する、
（ｄ）前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択される配列を含む、

（ｅ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する前記アミノ酸配列を含み、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６７と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する前記アミノ酸配列を含み、任意選択で前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６５のアミノ酸配列を含み前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６７のアミノ酸配列を含む、又は、
（ｆ）前記拡張されたＴＩＬが、治療上有効な投与量の前記ＴＩＬを、それを必要とする対象に投与するのに十分なＴＩＬを含み、任意選択で前記拡張されたＴＩＬの前記治療上有効な投与量が約１×１０^{9}～約９×１０^{10}個のＴＩＬを含む、
請求項３に記載の方法。
【請求項５】
ＣＩＳＨをコードする遺伝子の標的部位でＤＮＡ切断を認識し、その結果をもたらす転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥヌクレアーゼ）であって、配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、前記ＴＡＬＥヌクレアーゼ。
【請求項６】
（ａ）前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択される配列を含む、又は、
（ｂ）前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが、第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼによって構成され、前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６７と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含み、任意選択で前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６５のアミノ酸配列を含み前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６７のアミノ酸配列を含む、
請求項５に記載のＴＡＬＥヌクレアーゼ。
【請求項７】
前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、第１のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合された第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインによって構成される第１の融合タンパク質であり、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、第２のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合された第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインによって構成される第２の融合タンパク質であり、
任意選択で、
（ａ）前記第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが、第１のアミノ酸配列を有し、前記第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが、第２のアミノ酸配列を有し、前記第１のアミノ酸配列が、前記第２のアミノ酸配列とは異なる、
（ｂ）前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第１のアミノ酸配列を有し、前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第２のアミノ酸配列を有し、前記第１のアミノ酸配列が、前記第２のアミノ酸配列と同じである、
（ｃ）前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメイン及び前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインの両方が、Ｆｏｋ－Ｉのアミノ酸配列を有する、
（ｄ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、ヘテロ二量体ＤＮＡ切断複合体を形成して、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子の前記標的部位でＤＮＡ切断を行うことができ、前記標的部位が、配列番号１７５の核酸配列を含む、又は、

（ｅ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子の前記標的部位内の第１の位置に位置する第１の半分の標的を認識し、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記第１の位置と重複しない前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子の前記標的部位内の第２の位置に位置する第２の半分の標的を認識する、
請求項６に記載のＴＡＬＥヌクレアーゼ。
【請求項８】
遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を、ＣＩＳＨ及び任意選択でＰＤ－１の発現の低減を含む治療的なＴＩＬ集団に拡張するための方法であって、前記方法が、
（ａ）対象から取得された腫瘍試料を複数の腫瘍断片に処理することによって、対象から切除された腫瘍から第１のＴＩＬ集団を取得する、及び／または受け取ることと、
（ｂ）前記第１のＴＩＬ集団を閉鎖系に添加することと、
（ｃ）ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で、前記第１のＴＩＬ集団を培養することによって第１の拡張を行うことであって、前記第１の拡張が、第１のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われ、前記第１の拡張が、約３～１４日間行われて第２のＴＩＬ集団を取得し、ステップ（ｂ）からステップ（ｃ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記第１の拡張を行うことと、
（ｄ）ＣＩＳＨをコードする遺伝子をＤＮＡ切断によって選択的に不活性化することができる１つ以上の第１の転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥヌクレアーゼ）をコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入することであって、前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子中の標的部位を対象とするＴＡＬＥヌクレアーゼを含み、前記標的部位が、配列番号１７５の核酸配列を含み、及び任意選択で、ＰＤ－１をコードする遺伝子をＤＮＡ切断することによって選択的に不活性化することができる１つ以上の第２のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入する、前記導入することと、
（ｅ）ステップ（ｄ）から得られた前記ＴＩＬを、ＩＬ－２、ＯＫＴ－３、及び抗原提示細胞（ＡＰＣ）を含む細胞培養培地中で培養することによって第２の拡張を実施して、第３のＴＩＬ集団を産生することであって、前記第２の拡張が、約７～１４日間行われることにより前記第３のＴＩＬ集団を取得し、前記第３のＴＩＬ集団が、治療的なＴＩＬ集団であり、前記第２の拡張が、第２のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われる、前記第３のＴＩＬ集団を産生することと、
（ｆ）ステップ（ｅ）から取得された前記治療的なＴＩＬ集団を採取することであって、ステップ（ｅ）からステップ（ｆ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記採取することと、
（ｇ）ステップ（ｆ）からの前記採取されたＴＩＬ集団を注入バッグに移送することであって、ステップ（ｆ）から（ｇ）への移送が、前記系を開放することなく起こる、前記移送することと、を含む、前記方法。
【請求項９】
遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を、ＣＩＳＨ及び任意選択でＰＤ－１の発現の低減を含む治療的なＴＩＬ集団に拡張するための方法であって、前記方法が、
（ａ）対象から取得された腫瘍試料を複数の腫瘍断片に処理することによって、前記対象から切除された腫瘍から第１のＴＩＬ集団を取得することと、
（ｂ）前記腫瘍断片を閉鎖系に添加することと、
（ｃ）ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で前記第１のＴＩＬ集団を培養することによって第１の拡張を行い、第２のＴＩＬ集団を産生することであって、前記第１の拡張が、第１のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われ、前記第１の拡張が、約３～１１日間行われることにより前記第２のＴＩＬ集団を取得し、ステップ（ｂ）からステップ（ｃ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記第２のＴＩＬ集団を産生することと、
（ｄ）ＣＩＳＨをコードする遺伝子をＤＮＡ切断によって選択的に不活性化することができる１つ以上の第１の転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥヌクレア

ーゼ）をコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入することであって、前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子中の標的部位を対象とするＴＡＬＥヌクレアーゼを含み、前記標的部位が、配列番号１７５の核酸配列を含み、及び任意選択で、ＰＤ－１をコードする遺伝子をＤＮＡ切断することによって選択的に不活性化することができる１つ以上の第２のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入する、前記導入することと、

（ｅ）ステップ（ｄ）から得られたＴＩＬを、ＩＬ－２、ＯＫＴ－３、及び抗原提示細胞（ＡＰＣ）を含む細胞培養培地中で培養することによって第２の拡張を実施して、第３のＴＩＬ集団を産生することであって、前記第２の拡張が、約７～１１日間行われて前記第３のＴＩＬ集団を取得し、前記第３のＴＩＬ集団が、治療的なＴＩＬ集団であり、前記第２の拡張が、第２のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われる、前記第３のＴＩＬ集団を産生することと、

（ｆ）ステップ（ｅ）から取得された前記治療的なＴＩＬ集団を採取することであって、ステップ（ｅ）からステップ（ｆ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記採取することと、

（ｇ）ステップ（ｆ）からの採取された前記治療的なＴＩＬ集団を注入バッグに移送することであって、ステップ（ｆ）から（ｇ）への移送が、前記系を開放することなく起こる、前記移送することと、を含む、前記方法。

【請求項１０】

遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を、ＣＩＳＨ及び任意選択でＰＤ－１の発現の低減を含む治療的なＴＩＬ集団内に拡張するための方法であって、前記方法が、

（ａ）対象から取得された腫瘍試料を複数の腫瘍断片に処理することによって、前記対象から切除された腫瘍から第１のＴＩＬ集団を取得することと、

（ｂ）前記腫瘍断片を閉鎖系に添加することと、

（ｃ）ＩＬ－２、及び任意選択によりＯＫＴ－３を含む細胞培養培地中で前記第１のＴＩＬ集団を培養することによって第１の拡張を行い、第２のＴＩＬ集団を産生することであって、前記第１の拡張が、第１のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われ、前記第１の拡張が、約３～１４日間行われて前記第２のＴＩＬ集団を取得し、ステップ（ｂ）からステップ（ｃ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記第２のＴＩＬ集団を産生することと、

（ｄ）ＣＩＳＨをコードする遺伝子をＤＮＡ切断によって選択的に不活性化することができる１つ以上の第１の転写活性化因子様エフェクターヌクレアーゼ（ＴＡＬＥヌクレアーゼ）をコードする核酸（複数可）を、前記ＴＩＬに導入することであって、前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記ＣＩＳＨをコードする遺伝子中の標的部位を対象とするＴＡＬＥヌクレアーゼを含み、前記標的部位が、配列番号１７５の核酸配列を含む、前記導入することと、及び任意選択で、ＰＤ－１をコードする遺伝子をＤＮＡ切断することによって選択的に不活性化することができる１つ以上の第２のＴＡＬＥヌクレアーゼを導入することと、

（ｅ）ステップ（ｄ）から得られたＴＩＬを、ＩＬ－２、任意選択によりＯＫＴ－３、及び抗原提示細胞（ＡＰＣ）を含む細胞培養培地中で培養することによって第２の拡張を実施して、第３のＴＩＬ集団を産生することであって、前記第２の拡張が、約４～６日間行われて、前記第３のＴＩＬ集団を取得し、前記第３のＴＩＬ集団が、治療的なＴＩＬ集団であり、前記第２の拡張が、第２のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われる、前記第３のＴＩＬ集団を産生することと、

（ｆ）前記第３のＴＩＬ集団を、第１の複数の２～５のＴＩＬ亜集団に分割することであって、少なくとも1.0×10^{9}個のＴＩＬが各亜集団に存在し、ステップ（ｄ）からステップ（ｅ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記分割することと、

（ｇ）前記各ＴＩＬ亜集団の細胞培養培地を追加のＩＬ－２、任意選択によりＯＫＴ－３で補充することによって、前記第１の複数のＴＩＬ亜集団の第３の拡張を行い、第２の複数のＴＩＬ亜集団を産生することであって、前記第３の拡張が、約５～７日間行われ、

各亜集団の前記第３の拡張が、第３のガス透過性表面積を提供する密閉容器内で行われ、ステップ（ｅ）からステップ（ｆ）への移行が、前記系を開放することなく起こる、前記第２の複数のＴＩＬのサブ集団を産生することと、
（ｈ）ステップ（ｆ）から取得された前記第２の複数のＴＩＬ亜集団を採取することと、
（ｉ）ステップ（ｇ）からの採取された前記ＴＩＬ亜集団を１つ以上の注入バッグに移送することであって、ステップ（ｇ）から（ｈ）への移行である、前記移送することと、
を含む、前記方法。
【請求項１１】
（ｉ）凍結保存プロセスを使用して、前記採取されたＴＩＬを凍結保存するステップをさらに含む、
（ｉｉ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする前記核酸（複数可）が、ＲＮＡである、
（ｉｉｉ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする前記核酸（複数可）を導入することが、エレクトロポレーションによって前記ＴＩＬに導入される、
（ｉｖ）前記方法が、前記導入するステップの前に、前記ＴＩＬをＯＫＴ－３の存在下で約１～３日間細胞培養培地中で培養することによって、前記ＴＩＬを活性化するステップをさらに含み、任意選択で前記ＯＫＴ－３が約３００ｎｇ／ｍｌの濃度である、
（ｖ）前記方法が、前記導入するステップの後、及び前記第２の拡張するステップの前に、前記ＴＩＬを、ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で約１日間静置するステップをさらに含み、任意選択で前記静置するステップにおける前記ＩＬ－２が約３０００ＩＵ／ｍｌの濃度である、
（ｖｉ）前記方法が、前記ＴＩＬを凍結保存し、続いて、解凍し、前記ＴＩＬを、ＩＬ－２を含む細胞培養培地中で約１～３日間培養することをさらに含む、
（ｖｉｉ）前記ステップ（ａ）～（ｇ）が、約１３日～約２９日間、任意選択により約１５日間、約１６日間、約１７日間、約１８日間、約１９日間、約２０日間、約２１日間、約２２日間、約２３日間、約２４日間、または約２５日間で行われる、
（ｖｉｉｉ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼをコードする前記核酸（複数可）が、ＲＮＡであり、前記ＲＮＡが、エレクトロポレーションによって前記ＴＩＬに導入される、又は、
（ｉｘ）前記１つ以上の第１のＴＡＬＥヌクレアーゼが、それぞれ、第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼによって構成され、任意選択で前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが第１のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合した第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインで構成される第１の融合タンパク質であり前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが第２のヌクレアーゼ触媒ドメインに融合した第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインで構成される第２の融合タンパク質であり、さらに任意選択で前記第１のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが第１のアミノ酸配列を有し前記第２のＴＡＬＥ核酸結合ドメインが第２のアミノ酸配列を有し前記第１のアミノ酸配列が前記第２のアミノ酸配列とは異なる、
請求項８～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１２】
前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第１のアミノ酸配列を有し、前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインが、第２のアミノ酸配列を有し、前記第１のアミノ酸配列が、前記第２のアミノ酸配列と同じであり、
任意選択で前記第１のヌクレアーゼ触媒ドメイン及び前記第２のヌクレアーゼ触媒ドメインが両方ともＦｏｋ－Ｉのアミノ酸配列を有し、さらに任意選択で前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼ及び前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼがヘテロ二量体ＤＮＡ切断複合体を形成して前記標的部位でＤＮＡ切断を行うことができる、
請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】

前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記標的部位内の第１の位置に位置する第１の半分の標的を認識し、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、前記第１の位置と重複しない前記標的部位内の第２の位置に位置する第２の半分の標的を認識し、
任意選択で、
（ａ）前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有するアミノ酸配列を含む、
（ｂ）前記ＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５及び配列番号１６７からなる群から選択される配列を含む、又は、
（ｃ）前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６５と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する前記アミノ酸配列を含み、前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが、配列番号１６７と少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、８７．５％、９０％、９２．５％、９５％、９７．５％、９８％、または９９％の配列同一性を有する前記アミノ酸配列を含み、任意選択で前記第１の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６５のアミノ酸配列を含み前記第２の半分のＴＡＬＥヌクレアーゼが配列番号１６７のアミノ酸配列を含む、
請求項１１又は１２に記載の方法。
【請求項１４】
（ｉ）採取された前記ＴＩＬが、治療上有効な投与量の前記ＴＩＬを、それを必要とする対象に投与するのに十分なＴＩＬを含み、任意選択で前記ＴＩＬの前記治療上有効な投与量が約1×10^{9}～約9×10^{10}個のＴＩＬを含む、
（ｉｉ）前記ＡＰＣが、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を含み、任意選択で前記ＰＢＭＣが約１：２５のＴＩＬ：ＰＢＭＣの比率で補充される、又は、
（ｉｉｉ）前記治療的なＴＩＬ集団が、前記対象に投与されたときに、増加した有効性、増加したインターフェロンガンマ（ＩＦＮ－γ）産生、増加したポリクローン性、増加した平均ＩＰ－１０、及び／または増加した平均ＭＣＰ－１を提供する、
請求項８～１３のいずれかに記載の方法。
【請求項１５】
前記ＩＬ－２が、前記第１の拡張において、前記細胞培養培地中に１０００ＩＵ／ｍＬ～６０００ＩＵ／ｍＬの初期濃度で存在し、
任意選択で、前記第２の拡張ステップにおいて、前記ＩＬ－２が１０００ＩＵ／ｍＬ～６０００ＩＵ／ｍＬの初期濃度で存在し、前記ＯＫＴ－３抗体が約３０ｎｇ／ｍＬの初期濃度で存在する、
請求項８～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１６】
（ｉ）前記第２及び／または第３の拡張ステップにおいて、前記ＩＬ－２が、１０００ＩＵ／ｍＬ～６０００ＩＵ／ｍＬの初期濃度で存在し、任意選択で、前記ＯＫＴ－３抗体が、約３０ｎｇ／ｍＬの初期濃度で存在する、
（ｉｉ）前記第２及び／または第３の拡張が、ガス透過性容器を使用して行われる、又は、
（ｉｉｉ）ステップ（ｄ）及び／または（ｆ）における前記細胞培養培地が、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－２１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるサイトカインをさらに含む、
請求項１０に記載の方法。
【請求項１７】
前記第１の拡張が、ガス透過性容器を使用して行われ、
任意選択で、前記第１の細胞培養培地が、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－２１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるサイトカインをさらに含む、

請求項８～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１８】
前記第２の拡張が、ガス透過性容器を使用して行われ、
任意選択で、
（ｉ）前記第２の細胞培養培地が、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－２１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるサイトカインをさらに含む、
（ｉｉ）前記第２の拡張の前記細胞培養培地が、ＩＬ－４、ＩＬ－７、ＩＬ－１５、ＩＬ－２１、及びそれらの組み合わせからなる群から選択されるサイトカインをさらに含む、
又は、
（ｉｉｉ）ステップ（ｃ）における前記第１の拡張及び／またはステップ（ｅ）における前記第２の拡張が、１１日間の期間内に個別に行われる、
請求項８又は９に記載の方法。
【請求項１９】
ＣＩＳＨ及び／またはＰＤ－１の低減された発現を含む遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）を含む集団または組成物であって、請求項１～４及び８～１８のいずれかに記載の方法によって得ることができる、前記ＴＩＬを含む集団または組成物。
【請求項２０】
がんの治療を必要とする対象においてがんを治療する方法に使用するための遺伝子修飾腫瘍浸潤リンパ球（ＴＩＬ）の治療的集団であって、前記遺伝子修飾ＴＩＬの治療的集団は、ＣＩＳＨ及び／またはＣＩＳＨ及びＰＤ－１の低減された発現を含み、前記方法は、前記対象に、前記遺伝子修飾ＴＩＬの治療的集団を投与することを含み、前記遺伝子修飾ＴＩＬの治療的集団が、請求項１～４及び８～１８のいずれかに記載の方法によって得ることができ、
任意選択で、前記がんが、黒色腫（転移性黒色腫を含む）、卵巣癌、子宮頸癌、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、肺癌、膀胱癌、乳癌、ヒトパピローマウイルスによって引き起こされるがん、頭頸部癌（頭頸部扁平上皮癌（ＨＮＳＣＣ）を含む）、腎癌、及び腎細胞癌からなる群から選択される、前記遺伝子修飾ＴＩＬの治療的集団。