【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】平成18年3月9日(2006.3.9)

【公表番号】特表2002-508977(P2002-508977A)
【公表日】平成14年3月26日(2002.3.26)
【出願番号】特願2000-540270(P2000-540270)
【国際特許分類】
Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)
Ｃ１２Ｎ　1/19　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/02　(2006.01)
Ｃ１２Ｑ　1/68　(2006.01)
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ｃ１２Ｎ　1/19
Ｃ１２Ｑ　1/02
Ｃ１２Ｑ　1/68　Ｚ

【手続補正書】
【提出日】平成18年1月19日(2006.1.19)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】特許請求の範囲
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】　酵母細胞表面上で野生型タンパク質を越える増強した提示可能性についてタンパク質を選択するための方法であって、以下：
酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；
該酵母細胞を、該酵母細胞表面上に提示されるタンパク質に結合し、そして該酵母細胞表面上に提示されないタンパク質と結合しない標識と接触させる工程；
該標識が結合する該酵母細胞を単離する工程であって、ここで試験されるタンパク質に結合した該標識の増強した存在が、該試験されるタンパク質が該酵母細胞表面上に提示可能であることを示す、工程、
を含む、方法。
【請求項２】　前記試験されるタンパク質が、抗体、Ｆａｂ、Ｆｖ、またはｓｃＦｖ抗体フラグメントである、請求項１に記載の方法。
【請求項３】　前記試験されるタンパク質が細胞表面レセプターのリガンド結合ドメインである、請求項１に記載の方法。
【請求項４】　前記細胞表面レセプターがＴ細胞レセプターである、請求項３に記載の方法。
【請求項５】　前記標識がＫＪ１６およびＩＢ２からなる群から選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項６】　前記試験されるタンパク質がＴ細胞レセプターである、請求項１に記載の方法。
【請求項７】　前記試験されるタンパク質が単鎖Ｔ細胞レセプターである、請求項６に記載の方法。
【請求項８】　前記試験されるタンパク質がｓｃＦｖ－ＫＪ１６であって、そして前

記標識がＴ細胞である、請求項１に記載の方法。

【請求項９】　タンパク質の野生型の表現型特性と比較して、増強した表現型特性を有する、タンパク質を選択するための方法であって、以下：

酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；

該酵母細胞を第１の標識と接触させる工程であって、ここで該第１の標識が、該増強した表現型特性を有するタンパク質を発現する酵母とは結合し、そして該増強した表現型特性を有するタンパク質を発現しない酵母と結合しない、工程；

該第１の標識が結合した該酵母細胞を単離する工程；

酵母により発現された該変異タンパク質の該表現型特性を分析し、そして該野生型タンパク質の表現型特性と比較する工程；ならびに

野生型タンパク質を越える増強した表現型特性を有する変異タンパク質を提示する酵母細胞を選択する工程；

を含み、ここで、該増強した表現型特性が、表面発現レベル、安定性、分泌レベルおよび可溶性の１つ以上である、方法。

【請求項１０】　前記試験されるタンパク質が、抗体、Ｆａｂ、Ｆｖ、またはｓｃＦｖ抗体フラグメントである、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】　前記試験されるタンパク質が細胞表面レセプターのリガンド結合ドメインである、請求項９に記載の方法。

【請求項１２】　前記細胞表面レセプターがＴ細胞レセプターである、請求項１１に記載の方法。

【請求項１３】　前記試験されるタンパク質が、そのＮ末端によって、前記酵母細胞壁タンパク質のＣ末端に融合される、請求項９に記載の方法。

【請求項１４】　前記酵母細胞壁タンパク質がアグルチニンである、請求項９に記載の方法。

【請求項１５】　請求項９に記載の方法であって、ここで前記酵母がＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ、Ｈａｎｓｅｎｕｌａ、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ、Ｙａｒｒｏｗｉａ、およびＣａｎｄｉｄａからなる群から選択される属からのものである、方法。

【請求項１６】　前記試験されるタンパク質の前記変異体が、単一変異体および多重変異体からなる群から選択される、請求項９に記載の方法。

【請求項１７】　前記第１の標識が、前記試験されるタンパク質に対するリガンドに付着された磁性粒子および蛍光標識からなる群から選択される、請求項９に記載の方法。

【請求項１８】　増強した表現型特性を有する目的の変異したタンパク質の選択が、前記形質転換工程および接触工程の反復サイクルを含む、請求項９に記載の方法。

【請求項１９】　請求項９に記載の方法であって、以下：

前記酵母細胞を第２の標識と接触させる工程であって、ここで該酵母細胞を形質転換するために使用される前記ベクターが、該試験されるタンパク質に融合されたポリペプチド配列を発現して融合ポリペプチドを産生するための手段を含み、そして該第２の標識が、該融合ポリペプチドを発現する酵母細胞と結合し、そして該融合ポリペプチドを発現しない酵母細胞と結合しない、工程；

該第２の標識を定量することによって、形質転換された酵母集団を富化する工程であって、ここで該第２の標識の出現が、細胞表面上に発現される該融合ポリペプチドの量に正比例する、工程；ならびに

該第２の標識の該定量と前記第１の標識の前記定量とを比較して、前記試験されるタンパク質の表面発現レベルを決定する工程、

をさらに含む、方法。

【請求項２０】　請求項１９に記載の方法であって、ここで試験される野生型タンパク質の表面発現レベルと比較した前記試験される変異タンパク質の前記表面発現レベルに

おける増加が、該変異タンパク質の所望の表現型特性について選択するために使用され得、ここで該所望の表現型特性が、細胞内発現レベル、安定性、分泌レベル、および可溶性の１つ以上を含む、方法。

【請求項２１】　前記第２の標識により認識される前記融合ポリペプチドの前記ポリペプチド部分がエピトープタグである、請求項１９に記載の方法。

【請求項２２】　前記第１の標識および前記第２の標識が蛍光標識である、請求項１９に記載の方法。

【請求項２３】　請求項９に記載の方法であって、以下の工程：

真核生物細胞中での発現に適合したベクター中に前記選択された変異タンパク質をコードする遺伝子をクローニングする工程；および

該真核生物細胞中で該変異タンパク質を発現させる工程であって、ここで該変異タンパク質の前記増強した表現型特性が、該変異タンパク質の該増強した表現型特性の特性と前記野生型タンパク質の特性とを比較することによって確認される、工程、

をさらに含む、方法。

【請求項２４】　前記真核生物細胞が、哺乳動物細胞、昆虫細胞および酵母細胞からなる群から選択される、請求項２３に記載の方法。

【請求項２５】　請求項９に記載の方法であって、以下：

原核生物中での発現に適合したベクター中に前記選択された変異タンパク質をコードする遺伝子をクローニングする工程；および

該原核生物において該変異タンパク質を発現させる工程であって、ここで該変異タンパク質の前記増強した表現型特性が、該変異タンパク質の該増強した表現型特性の特性と前記野生型タンパク質の特性とを比較することによって確認される、工程、

をさらに含む、方法。

【請求項２６】　所望される標識への改善された結合特性を有する、酵母細胞表面上に提示されるＴ細胞レセプターを選択する方法であって、以下：

酵母細胞壁タンパク質に融合されたＴ細胞レセプターを発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該Ｔ細胞レセプターの変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；

該酵母細胞を標識と接触させる工程であって、ここで該標識が、該酵母細胞表面上に提示されるＴ細胞レセプターと結合し、そして該酵母細胞表面上に提示されないＴ細胞レセプターと結合しない、工程；

該標識を定量する工程であって、ここで該標識の高いレベルが、該Ｔ細胞レセプターが、酵母細胞表面上に提示され、そして該標識への改善された結合特性を有することを示す、工程、

を含む、方法。

【請求項２７】　請求項２６に記載の方法であって、ここで前記試験されるタンパク質が単鎖Ｔ細胞レセプターであり、そして前記標識がＭＨＣ－ペプチド複合体またはスーパー抗原である、方法。

【請求項２８】　領域特異的標識へ結合するタンパク質を単離する方法であって、以下：

酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；

該酵母細胞を、該試験されるタンパク質の特異的領域に結合する領域特異的標識と接触させる工程；

該領域特異的標識が結合した該酵母細胞を単離する工程、

を含む、方法。

【請求項２９】　酵母細胞の表面上において１つより多い異なるポリペプチドを提示する方法であって、以下：

酵母細胞壁タンパク質に融合された、提示されるタンパク質を発現するベクターを用い

て酵母細胞を形質転換する工程、
を含む、方法。
【請求項３０】　請求項２９に記載の方法であって、ここで前記ポリペプチドが、提示可能である生物体の該ポリペプチドからなる群から選択される１つ以上である、方法。
【請求項３１】　前記生物体が哺乳動物である、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】　酵母細胞上に提示される複数の異なるポリペプチドを含むライブラリー。
【請求項３３】　請求項５に記載の方法によって作られた、請求項３２のライブラリー。
【請求項３４】　請求項３２のライブラリーであって、ここで前記ポリペプチドが、提示可能である生物体の該ポリペプチドからなる群から選択される１つ以上である、ライブラリー。
【請求項３５】　前記生物体が哺乳動物である、請求項３４に記載のライブラリー。
【請求項３６】　リガンド結合タンパク質の野生型に比較して、増強された結合特性を有する、変異リガンド結合タンパク質を提示する酵母細胞を産生する方法であって、該方法は、以下：
該野生型結合タンパク質をコードする遺伝子を単離する工程；
該野生型タンパク質をランダムに変異させることによって変異タンパク質のライブラリーを作製する工程；
それぞれの発現カセットへそれぞれの該変異タンパク質を組み入れる工程であって、それぞれが以下の構造：
５’－ＧＡＬ　１－１０－－　Ａｇａ２ｐ－－変異ポリペプチド
を有する、工程；
それぞれのベクターへそれぞれの該発現カセットを組み入れる工程；
該カセット含有ベクターを用いて酵母細胞を形質転換して、多様な形質転換された酵母細胞を生じさせる工程；
該形質転換された酵母細胞において該カセットを発現させる工程であって、ここで該リガンド結合タンパク質がそれぞれの該酵母細胞の表面上に提示され、該提示されたリガンド結合タンパク質が該変異した結合の１つを含む、工程；
該酵母細胞上の提示されたタンパク質を、該提示されたタンパク質へ特定の標識を結合させることによって標識する工程；
フローサイトメトリーを使用して、標識特性にしたがって該酵母細胞を選別する工程；
該選別された細胞における該リガンド結合タンパク質の表面発現レベルを決定する工程；
該選別された細胞の表面における該リガンド結合タンパク質のリガンド結合特性を決定する工程であって、これにより増強されたリガンド結合特性を示す大量のリガンド結合タンパク質を発現する少なくとも１つの好ましい酵母細胞が同定される、工程；および
少なくとも１つの好ましい酵母細胞をクローニングする工程
を含む、方法。
【請求項３７】　請求項３６に記載の方法であって、ここで前記タンパク質が、そのＮ末端において第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合され、ここで該第１のエピトープタグ配列のＮ末端がアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該タンパク質配列がそのＣ末端で第２のエピトープタグに結合し、該Ａｇａ２ｐが前記酵母細胞表面上のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに２つのジスルフィド結合によって結合される、方法。
【請求項３８】　Ｔ細胞結合タンパク質の野生型に比較して、増強されたＴ細胞結合特性を有する、変異Ｔ細胞結合タンパク質を産生する方法であって、該方法は、以下：
該野生型Ｔ細胞結合タンパク質をコードする遺伝子を単離する工程；
該野生型タンパク質をランダムに変異させることによって変異タンパク質のライブラリーを作製する工程；

それぞれの発現カセットへそれぞれの該変異タンパク質を組み入れる工程であって、それぞれが以下の構造：
５’－ＧＡＬ　１－１０－－　Ａｇａ２ｐ－－ＨＡ－－変異ポリペプチド－－ｃ－ｍｙｃ－３’
を有する、工程；
それぞれのベクターへそれぞれの該発現カセットを組み入れる工程；
該カセット含有ベクターを用いて酵母細胞を形質転換して、多様な形質転換された酵母細胞を生じさせる工程；
該形質転換された酵母細胞において該カセットを発現させる工程であって、これにより独特の融合タンパク質がそれぞれの該酵母細胞の表面上で提示され、該融合タンパク質は、そのＮ末端において第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合された、該変異したＴ細胞結合タンパク質の１つを含み、ここで該第１のエピトープタグ配列のＮ末端がアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該Ｔ細胞結合タンパク質配列がそのＣ末端で第２のエピトープタグに結合され、該Ａｇａ２ｐが該酵母細胞表面上のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに２つのジスルフィド結合によって結合される、工程；
該ｃ－ｍｙｃおよび該Ｔ細胞結合タンパク質へ細胞計数において識別可能な標識を結合させることによって、該酵母細胞上の融合タンパク質を標識する工程；
フローサイトメトリーを使用して、標識特性にしたがって該酵母細胞を選別する工程；
該選別された細胞におけるＴ細胞結合タンパク質の表面発現レベルを決定する工程；および
該選別された細胞の表面上における該Ｔ細胞結合タンパク質のリガンド結合特性を決定する工程であって、これにより増強されたＴ細胞結合特性を示す大量の融合タンパク質を発現する少なくとも１つの好ましい酵母細胞が同定される、工程；
該少なくとも１つの好ましい酵母細胞をクローニングする工程；および
該ジスルフィド結合を還元し、これにより該融合タンパク質が該酵母細胞から放出される、工程、
を含む、方法。

【請求項３９】　請求項３８に記載の方法の変異Ｔ細胞産物。

【請求項４０】　既定のリガンドに対するポリペプチドの野生型の結合特性と比較して、該リガンドのより好ましい結合を示す、変異ポリペプチドを開発するプロセスであって、ここで該プロセスは、以下：
既定の野生型ポリペプチドをランダムに変異させて、変異ポリペプチドの集団を生じさせる工程；
酵母細胞のライブラリーを作製する工程であって、ここでそれぞれが、該変異ポリペプチドの１つを含む融合タンパク質の少なくとも１つのコピーをその表面上に提示し、該融合タンパク質のアミノ酸配列が、そのＮ末端においてアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合された該変異ポリペプチド配列、該Ａｇａ２ｐとリガンド結合ポリペプチド配列との間の第１のエピトープタグ配列、ならびに該リガンド結合ポリペプチド配列のＣ末端に結合された第２のエピトープタグ配列からなり、ここで該Ａｇａ２ｐは、該酵母細胞表面上のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに２つのジスルフィド結合によって結合されており、ここで標識が、該第２のエピトープタグおよび該変異ポリペプチドの少なくとも１つに結合される、工程；
フローサイトメトリーによって該酵母細胞を選別する工程；
所望の変異ポリペプチドを発現する細胞をクローニングする工程；
該所望の変異ポリペプチドをコードするＤＮＡ配列をレスキューし、そして配列決定する工程；
該ＤＮＡ配列を増幅し、そして発現させる工程；および
該所望の変異ポリペプチドを収集する工程、
を含む、プロセス。

【請求項４１】　請求項４０に記載のプロセスのＤＮＡ中間産物であって、前記遺伝

子が前記プロセスの所望の変異ポリペプチド産物をコードする、産物。

【請求項４２】　規定のリガンドに対するタンパク質の野生型の結合特性と比較して、該リガンドに対して増強された結合特性を有するタンパク質を開発するためのプロセスであって、ここで該プロセスは、該タンパク質の野生型をコードする遺伝子を変異させる工程、該変異遺伝子によってコードされる変異タンパク質を酵母細胞表面上に提示する工程、該リガンドを該提示された変異タンパク質と接触させる工程、および該提示される変異タンパク質によってリガンドの結合の程度を決定する工程を含み、改善が、以下：

そのＮ末端において第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合された変異ポリペプチド配列からなる融合タンパク質を該酵母細胞表面上に提示する工程であって、該第１のエピトープタグ配列のＮ末端がアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該変異ポリペプチド配列がそのＣ末端で該第２のエピトープタグに結合され、該Ａｇａ２ｐが該酵母細胞表面上のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに２つのジスルフィド結合によって結合される、工程；

該第２のエピトープタグおよび該変異ポリペプチドの少なくとも１つに特有の標識を結合することによって該融合タンパク質を標識する工程；

フローサイトメトリーを使用して、それらの標識特性にしたがって該酵母細胞を選別する工程；

該選別された細胞における該融合タンパク質の表面発現レベルを決定する工程；および

該変異ポリペプチドのリガンド結合特性を決定する工程、

を含む、プロセス。

【請求項４３】　請求項４２に記載のプロセスのＤＮＡ中間産物であって、前記遺伝子が前記プロセスの所望の変異ポリペプチド産物をコードする、産物。

【請求項４４】　Ｔ細胞結合タンパク質の野生型に比較して、増強されたＴ細胞結合特性を有する、変異該Ｔ細胞結合タンパク質を産生するためのキットであって、該キットは、以下：

該野生型Ｔ細胞結合タンパク質をコードする遺伝子に共有結合し得る発現カセットであって、それぞれが以下の構造：

５’－ＧＡＬ　１－１０－－　ＡＧＡ２ｐ－－ＨＡ－－変異ポリペプチド－－ｃ－ｍｙｃ－３’

を有する、カセット；

該発現カセットを受容し得るベクターであって；

該ベクターは、多様な形質転換された酵母細胞を生じさせるために酵母細胞とともに使用可能であって、該形質転換された酵母細胞において該カセットを発現し得、これにより該変異Ｔ細胞結合タンパク質が、そのＮ末端において第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合され、ここで該第１のエピトープタグ配列のＮ末端がアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該Ｔ細胞結合タンパク質配列がそのＣ末端で第２のエピトープタグに結合され、該Ａｇａ２ｐが該酵母細胞表面上のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに少なくとも１つのジスルフィド結合によって結合される、ベクター；

該酵母細胞上の提示されるタンパク質を、該提示されるタンパク質に特定の標識を結合させることによって標識するための標識であって、ここで該標識は、それらの標識特性にしたがって該酵母細胞を選別するために用いる場合、フローサイトメトリーによって読み取り可能であり、該標識は、ｃ－ｍｙｃおよび該Ｔ細胞結合タンパク質を標識するために用いる場合、細胞計数において識別可能である、標識；

該選別された細胞における該Ｔ細胞結合タンパク質の表面発現レベルを決定するため、および増強されたＴ細胞結合特性を示す大量のＴ細胞結合タンパク質を発現する該Ｔ細胞のリガンド結合特性を決定するため、および少なくとも１つの好ましい酵母細胞をクローニングするため、および該融合タンパク質が該酵母細胞から放出されるように少なくとも１つの該ジスルフィド結合を還元するための、指示書

を備える、キット。

【請求項４５】　リガンドを同定するために高親和性ＴＣＲを用いる方法であって、

該方法は、以下：
高親和性ＴＣＲを標識する工程；
該標識されたＴＣＲをリガンドと接触させる工程；および
該標識されたＴＣＲが結合されるリガンドを同定する工程、
を含む、方法。
【請求項４６】　請求項４５に記載の方法であって、ここで前記標識が、以下：
蛍光化合物、化学発光化合物、放射性同位元素および発色団、
からなる群から選択される、方法。
【請求項４７】　前記リガンドがペプチド／ＭＨＣリガンドである、請求項４６に記載の方法。
【請求項４８】　選択されたペプチド／ＭＨＣリガンドに結合するために高親和性ＴＣＲを用いる方法であって、該方法は、以下：
該選択されたペプチド／ＭＨＣリガンドに結合する標識で該高親和性ＴＣＲを標識する工程；
該標識された高親和性ＴＣＲをＭＨＣ分子を含む細胞と接触させる工程
を含む、方法。
【請求項４９】　請求項４８に記載の方法であって、ここで前記標識が、以下：
蛍光化合物、化学発光化合物、放射性同位元素および発色団、
からなる群から選択される、方法。
【請求項５０】　細胞の自己免疫破壊をブロックするための方法であって、ここで該方法が、標的細胞の表面でＴリンパ球によって認識される部位に対して高親和性を有するＴＣＲを細胞と接触させる工程であって、これにより細胞の該自己免疫破壊がブロックされる、工程を含む、方法。
【請求項５１】　疾患を処置するために高親和性ＴＣＲを用いる方法であって、ここで該方法が、以下：
腫瘍性細胞表面マーカーに対して高親和性を有するＴＣＲを治療化合物と結合させる工程；および
該ＴＣＲを細胞と接触させる工程、
を含む、方法。
【請求項５２】　野生型ＴＣＲよりリガンドに対して高親和性を有する、可溶性Ｔ細胞レセプター（ＴＣＲ）。
【請求項５３】　前記リガンドがペプチド／ＭＨＣリガンドである、請求項５２に記載の可溶性高親和性ＴＣＲ。
【請求項５４】　請求項５２に記載の可溶性高親和性ＴＣＲであって、ここで該高親和性ＴＣＲが、以下：ＴＣＲを変異させて、変異ＴＣＲコード配列を作製する工程；変異ＴＣＲのための該変異ＴＣＲコード配列を含むＤＮＡで酵母細胞を形質転換する工程；該変異ＴＣＲが該酵母細胞表面上に提示されるように該変異ＴＣＲコード配列の発現を誘導する工程；該酵母細胞を該ペプチド／ＭＨＣリガンドに結合する蛍光標識と接触させて、選択される酵母細胞を産生する工程；および最も高い蛍光を示す酵母細胞を単離する工程を含む方法によって作られる、可溶性高親和性ＴＣＲ。
【請求項５５】　酵母提示によって単離された、請求項５２に記載の可溶性高親和性ＴＣＲ。
【請求項５６】　可溶性高親和性ＴＣＲをコードする核酸を含むＤＮＡライブラリーであって、ここで該ＴＣＲが、ＴＣＲを変異させて、変異ＴＣＲコード配列を作製し；変異ＴＣＲのための該変異ＴＣＲコード配列を含むＤＮＡで酵母細胞を形質転換し；該変異ＴＣＲが該酵母細胞表面上に提示されるような該変異ＴＣＲコード配列の発現を誘導し；該酵母細胞を該ペプチド／ＭＨＣリガンドに結合する蛍光標識と接触させて、選択される酵母細胞を産生し；そして最も高い蛍光を示す該酵母細胞を単離する方法によって作られる、ＤＮＡライブラリー。
【請求項５７】　酵母細胞の表面上に提示されたＴ細胞レセプタータンパク質のライ

ブラリーであって、ここで該Ｔ細胞レセプタータンパク質は、ペプチド／ＭＨＣリガンドに対して野生型Ｔ細胞レセプタータンパク質よりも高い親和性を有し、ここで該ライブラリーが、Ｔ細胞レセプタータンパク質コード配列を変異誘発することにより形成されて、該Ｔ細胞レセプタータンパク質コード配列の変異体の変化に富む集団を生成し；該Ｔ細胞レセプター変異体コード配列で酵母細胞を形質転換し；該酵母細胞表面上での該Ｔ細胞レセプター変異体の発現を誘導し；そして該ペプチド／ＭＨＣリガンドに対して該野生型Ｔ細胞レセプタータンパク質よりも高い親和性を有するＴ細胞レセプター変異体を発現する細胞を選択することによって形成される、ライブラリー。

【請求項５８】　Ｔ細胞の表面上での変異体の発現を可能にする系へ、高親和性ＴＣＲ変異体に対する遺伝子をクローニングするための方法であって、ここで該方法が、以下：

ＴＣＲを変異させて、高親和性ＴＣＲ変異体を作製する工程；

ベクターへ該ＴＣＲ変異体をクローニングする工程；

Ｔ細胞へ該ベクターをトランスフェクトする工程；

該Ｔ細胞の表面上で該高親和性ＴＣＲ変異体を発現させる工程

を含む、方法。

【請求項５９】　請求項５８に記載の方法であって、ここで該方法が、ペプチド／ＭＨＣリガンドによって野生型よりも活性化されるＴ細胞を選択する工程をさらに含む、方法。

【請求項６０】　トランスフェクト／感染されたＴ細胞が、選択されたペプチド産生ＭＨＣ細胞の認識のために用いられる、請求項５８に記載の方法。

【請求項６１】　請求項５８に記載の方法によって作られたＴ細胞。

【請求項６２】　その同族のリガンドに対して野生型ＴＣＲよりも高い親和性を示す可溶性変異体高親和性ＴＣＲをコードするＤＮＡ配列。

【請求項６３】　前記同族のリガンドがペプチド／ＭＨＣリガンドである、請求項６２に記載のＤＮＡ配列。

【請求項６４】　前記同族のリガンドがスーパー抗原である、請求項６２に記載のＤＮＡ配列。

【請求項６５】　請求項６２に記載されるＤＮＡ配列であって、ここで該ＤＮＡ配列が、以下：ＴＣＲを変異誘発して変異ＴＣＲコード配列を作製する工程；変異ＴＣＲに対する該変異ＴＣＲコード配列を含むＤＮＡで酵母細胞を形質転換する工程；該変異ＴＣＲが該酵母細胞表面上に提示されるように該変異ＴＣＲコード配列の発現を誘導する工程；該酵母細胞を該ペプチド／ＭＨＣリガンドに結合する蛍光標識と接触させて、選択される酵母細胞を産生する工程；および最も高い蛍光を示す該酵母細胞を単離し、その後該選択された酵母細胞から該変異ＴＣＲコード配列を単離する工程を含む方法により作られる、ＤＮＡ配列。

【請求項６６】　標識への改善された結合を有するタンパク質を選択するための方法であって、ここで該方法が、以下：

酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；

該酵母細胞を、酵母細胞表面上に提示されるタンパク質に結合し、そして酵母細胞表面上に提示されないタンパク質と結合しない標識と接触させる工程；

該標識が結合した該酵母細胞を単離する工程であって、ここで該試験されるタンパク質に結合した該標識の存在が、該試験されるタンパク質が該酵母細胞表面上に提示可能であることを示す、工程；

酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程であって、ここで変異誘発が、該試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、工程；

該酵母細胞を第１の標識を用いて標識する工程であって、ここで該第１の標識が、該試

験されるタンパク質を発現する酵母に結合し、そして該試験されるタンパク質を発現しない酵母と結合しない、工程；
該第１の標識が結合した、該酵母細胞を単離する工程；および
酵母によって発現される該変異タンパク質の特性を分析し、そして野生型タンパク質の特性と比較する工程であって、ここで該野生型タンパク質を越えて増強した特性を有する変異タンパク質を示す酵母細胞が選択される、工程、
を含む、方法。
【請求項６７】　野生型タンパク質を越えて増強した提示可能性を有する変異タンパク質を選択する方法であって、ここで該方法が、以下：
タンパク質コード配列を変異誘発して、該タンパク質コード配列の変異体の変化に富んだ集団を生成する工程；
該変異体コード配列を酵母細胞に形質転換する工程；
該酵母細胞表面上で該変異体コード配列の発現を誘導する工程；および
該野生型タンパク質を越える増強した提示可能性を有する変異体を発現する該細胞を選択する工程、
を含む、方法。
【請求項６８】　患者における疾患を診断する方法であって、ここで該方法が、以下：
該患者から野生型Ｔ細胞を取り出す工程；
該疾患についてのマーカーを発現するベクターで該Ｔ細胞を形質転換する工程；
患者へ該形質転換されたＴ細胞を戻す工程；
該疾患についての該マーカーを検出する工程、
を含む、方法。
【請求項６９】　薬学的キャリアー中に高親和性ＴＣＲを含む薬学的組成物。
【請求項７０】　請求項６９に記載の薬学的組成物を用いる方法であって、患者に該組成物を投与する工程を含む方法。
【請求項７１】　フローサイトメトリーによって前記酵母細胞を選別する工程をさらに含む、請求項１に記載の方法。
【請求項７２】　前記単離する工程がフローサイトメトリーによって実施される、請求項９に記載の方法。
【請求項７３】　前記定量する工程がフローサイトメトリーによって実施される、請求項２６に記載の方法。
【請求項７４】　発現可能な遺伝子融合を含むベクターであって、該ベクターは、標識への改善した結合について試験される、タンパク質またはペプチドをコードする核酸配列に融合した酵母細胞壁タンパク質をコードする核酸配列を含み、ここで、該酵母細胞壁タンパク質は、該酵母細胞壁にジスルフィド結合によって結合される、ベクター。
【請求項７５】　前記酵母細胞壁タンパク質がアグルチニンの結合サブユニットである、請求項７４に記載のベクター。
【請求項７６】　前記試験されるタンパク質またはペプチドが抗体である、請求項７４に記載のベクター。
【請求項７７】　前記試験されるタンパク質またはペプチドが単鎖抗体である、請求項７４に記載のベクター。
【請求項７８】　前記試験されるタンパク質またはペプチドがＴ細胞レセプターである、請求項７４に記載のベクター。
【請求項７９】　前記試験されるタンパク質またはペプチドが単鎖Ｔ細胞レセプターである、請求項７４に記載のベクター。
【請求項８０】　前記試験されるタンパク質またはペプチドが抗体のＦａｂフラグメントである、請求項７４に記載のベクター。
【請求項８１】　前記試験されるタンパク質またはペプチドが抗体のＦｖフラグメントである、請求項７４に記載のベクター。

【請求項８２】　酵母細胞の表面に提示されるタンパク質またはポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸配列に融合した、酵母細胞壁タンパク質コードする核酸配列を含むベクターであって、ここで、該提示されるタンパク質またはポリペプチドまたはペプチドが、該酵母細胞壁タンパク質のＣ末端に融合される、ベクター。
【請求項８３】　前記酵母細胞壁タンパク質がアグルチニンの結合サブユニットである、請求項８２に記載のベクター。
【請求項８４】　前記酵母細胞壁タンパク質が前記細胞壁にジスルフィド結合によって結合される、請求項８３に記載のベクター。
【請求項８５】　発現可能な遺伝子融合を含むベクターのライブラリーであって、該ライブラリーは、標識への改善した結合について試験される、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸配列の変化に富む集団のメンバーに融合した酵母細胞壁タンパク質をコードする核酸配列を含み、ここで、該酵母細胞壁タンパク質は、該酵母細胞壁にジスルフィド結合によって結合される、ライブラリー。
【請求項８６】　酵母細胞の表面に提示される、タンパク質またはポリペプチドまたはペプチドをコードする核酸配列の変化に富む集団に融合した酵母細胞壁タンパク質をコードする核酸配列を含むベクターのライブラリーであって、ここで、該提示されるタンパク質またはポリペプチドまたはペプチドが、該酵母細胞壁タンパク質のＣ末端に融合される、ライブラリー。
【請求項８７】　前記酵母細胞タンパク質がＡｇａ２ｐである、請求項７４に記載のベクター。
【請求項８８】　前記Ａｇａ２ｐが、前記酵母細胞壁に結合するＡｇａ１ｐに結合する、請求項８７に記載のベクター。
【請求項８９】　標識への改善した結合を有するタンパク質を選択する方法であって、該方法は、以下：
酵母細胞壁タンパク質に融合された、試験されるタンパク質を発現するベクターを用いて酵母細胞を形質転換する工程；
該酵母細胞を、該試験されるタンパク質に結合する第１の標識と接触させる工程；
該第１の標識のレベルを決定する工程であって、ここで、該標識のより高いレベルは、該試験されるタンパク質が、該標識のより低いレベルを示す試験されるタンパク質よりも、標識への改善した結合を有することを示す、工程、
を包含する、方法。
【請求項９０】　請求項８９に記載の方法であって、さらに以下：
前記酵母細胞を第２の標識で標識する工程であって、ここで、該酵母細胞を形質転換するために使用される前記ベクターは、試験される前記タンパク質に融合したポリペプチド配列を発現し、融合ポリペプチドを生成するための手段を備え、ならびに該融合ポリペプチドを発現する酵母細胞に関連し、かつ該融合ポリペプチドを発現しない酵母細胞に関連しない該第２の標識を備える、工程；
形質転換された酵母集団を、該第２の標識を定量化することによって濃縮する工程であって、ここで、該第２の標識の存在は該細胞表面に発現される該融合タンパク質の存在量と正比例する、工程；および
前記第１の標識の定量化と該第２の標識の定量化を比較して、該試験されるタンパク質への該第１の標識の相対的な結合を決定する工程、
を包含する、方法。
【請求項９１】　前記酵母細胞壁タンパク質が、発現の間、該細胞にジスルフィド結合によって共有結合される、請求項８９に記載の方法。
【請求項９２】　前記酵母細胞壁タンパク質がアグルチニンである、請求項８９に記載の方法。
【請求項９３】　前記酵母細胞壁タンパク質がアグルチニンの結合サブユニットである、請求項８９に記載の方法。
【請求項９４】　前記酵母細胞壁タンパク質がＡｇａ２ｐである、請求項８９に記載

の方法。
【請求項９５】　前記試験されるタンパク質が、そのＮ末端によってアグルチニンの結合サブユニットのＣ末端に融合される、請求項８９に記載の方法。
【請求項９６】　前記試験されるタンパク質が、そのＮ末端によってＡｇａ２ｐのＣ末端に融合される、請求項８９に記載の方法。
【請求項９７】　前記酵母細胞が、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ、Ｈａｎｓｅｎｕｌａ、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ、ＹａｒｒｏｗｉａおよびＣａｎｄｉｄａからなる群より選択される属の細胞である、請求項８９に記載の方法。
【請求項９８】　前記酵母細胞が、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ種の細胞である、請求項９７に記載の方法。
【請求項９９】　前記第２の標識によって認識される前記融合ポリペプチドの該ポリペプチド部分が、エピトープタグである、請求項９０に記載の方法。
【請求項１００】　前記第１の標識および前記第２の標識が蛍光標識である、請求項９０に記載の方法。
【請求項１０１】　前記第１の標識が、試験されるタンパク質に対するリガンドに結合された磁性粒子である、請求項８９に記載の方法。
【請求項１０２】　前記定量工程および前記濃縮工程が、蛍光フローサイトメトリーによって実施される、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０３】　前記定量化工程および前記濃縮工程が、蛍光顕微鏡によって実施される、請求項１００に記載の方法。
【請求項１０４】　前記試験されるタンパク質が、抗体、Ｆａｂ、Ｆｖ、またはｓｃＦｖ抗体フラグメントである、請求項８９に記載の方法。
【請求項１０５】　前記試験されるタンパク質が細胞表面レセプターのリガンド結合ドメインである、請求項８９に記載の方法。
【請求項１０６】　前記試験されるタンパク質が細胞表面レセプターの可溶性リガンドである、請求項８９に記載の方法。
【請求項１０７】　前記変異誘発が、前記試験されるタンパク質の変異体の変化に富む集団を生成するために使用される、請求項９０に記載の方法。
【請求項１０８】　前記変異誘発が、前記ベクターを、エラープローンＤＮＡ複製を実施する突然変異誘発遺伝子菌種において継代することによってランダムに変異させることにより実施される、請求項１０７に記載の方法。
【請求項１０９】　前記変異誘発が、試験されるタンパク質の特定のアミノ酸残基の部位特異的変異誘発によって実施される、請求項１０７に記載の方法。
【請求項１１０】　改善した結合特性を有する目的の変異タンパク質の選択が、前記定量化工程および前記標識化工程の反復サイクルを包含する、請求項１０７に記載の方法。
【請求項１１１】　請求項８９に記載の方法を実施するためのベクターであって、該ベクターは、前記目的のタンパク質の遺伝子に融合した前記細胞壁タンパク質をコードする遺伝子を含む、ベクター。
【請求項１１２】　前記目的のタンパク質に融合したエピトープタグポリペプチド配列を発現するための手段をさらに備える、請求項１１１に記載のベクター。
【請求項１１３】　前記細胞壁タンパク質がアグルチニンである、請求項１１１に記載のベクター。
【請求項１１４】　前記細胞壁タンパク質がアグルチニンの結合サブユニットである、請求項１１１に記載のベクター。
【請求項１１５】　前記酵母アグルチニンがＡｇａ２ｐである、請求項１１１に記載のベクター。
【請求項１１６】　請求項１１２に記載のベクターであって、ここで、前記エピトープタグポリペプチドは、ＨＡ（配列番号１）、またはｃ－ｍｙｃ（配列番号２）からなる

群より選択されるか、あるいはＤＴＹＲＹＩ（配列番号３）、ＴＤＦＹＬＫ（配列番号４）、ＥＥＥＥＹＭＰＭＥ（配列番号５）、ＫＰＰＴＰＰＰＥＰＥＴ（配列番号６）、ＨＨＨＨＨＨ（配列番号７）、ＲＹＩＲＳ（配列番号８）およびＤＹＫＤＤＤＤＫ（配列番号９）からなる群より選択される配列である、ベクター。

【請求項１１７】　可撓性の構造化されていないポリペプチドリンカーが、前記細胞壁タンパク質と前記目的のタンパク質との間に融合される、請求項１１１に記載のベクター。

【請求項１１８】　前記可撓性のポリペプチドリンカーが、配列ＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳＧＧＧＧＳ（配列番号２０）を有する、請求項１１７に記載のベクター。

【請求項１１９】　前記融合タンパク質の発現が、誘導性のプロモーターによって制御される、請求項８９に記載の方法。

【請求項１２０】　前記誘導性のプロモーターが、ＧＡＬ１－１０プロモーターである、請求項１１９に記載の方法。

【請求項１２１】　Ａｇａ２ｐ発現が、前記ＧＡＬ１－１０プロモーターによって制御される、請求項９４に記載の方法。

【請求項１２２】　前記エピトープタグが、ｃ－ｍｙｃまたはＨＡである、請求項９９に記載の方法。

【請求項１２３】　酵母細胞表面に提示される融合タンパク質であって、該融合タンパク質のアミノ酸配列が、アグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に、そのＮ末端で連結されるポリペプチド配列からなり、該Ａｇａ２ｐは該酵母細胞表面のアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに２つのジスルフィド結合によって連結されている、融合タンパク質。

【請求項１２４】　前記アミノ酸配列が、前記Ａｇａ２ｐとポリペプチド配列との間の第１のエピトープタグ配列をさらに含む、請求項１２３に記載の融合タンパク質。

【請求項１２５】　前記アミノ酸配列が、前記ポリペプチド配列のＣ末端に結合されている第２のエピトープタグ配列をさらに含む、請求項１２４に記載の融合タンパク質。

【請求項１２６】　標識が前記第２のエピトープタグに結合されている、請求項１２５に記載の融合タンパク質。

【請求項１２７】　標識が前記ポリペプチドに結合されている、請求項１２３に記載の融合タンパク質。

【請求項１２８】　前記ポリペプチドが、リガンド結合ポリペプチドである、請求項１２３に記載の融合タンパク質。

【請求項１２９】　前記リガンド結合ポリペプチドが、機能的抗体および細胞表面レセプターならびにそれらのフラグメントからなる群より選択される、請求項１２８に記載の融合タンパク質。

【請求項１３０】　前記ポリペプチドが、抗Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１２９に記載の融合タンパク質。

【請求項１３１】　前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号２１、配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４からなる群より選択される抗Ｔ細胞フラグメントである、請求項１２９に記載の融合タンパク質。

【請求項１３２】　前記ポリペプチドが、Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１２９に記載の融合タンパク質。

【請求項１３３】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが変異誘発されている、請求項１３２に記載の融合タンパク質。

【請求項１３４】　前記変異Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが配列番号２４である、請求項１３３に記載の融合タンパク質。

【請求項１３５】　融合タンパク質を提示する酵母細胞であって、該融合タンパク質が、そのＮ末端でアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合されたリガンド結合ポリペプチド配列からなるアミノ酸配列を有し、該Ａｇａ２ｐが、該酵母細胞表面上で２つのジスルフィド結合によってアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに結合されて

いる、酵母細胞。
【請求項１３６】　前記融合ポリペプチドが特定のリガンドに結合可能である、請求項１３５に記載の酵母細胞。
【請求項１３７】　前記ポリペプチド配列が、関連する野生型ポリペプチドの変異体である、請求項１３５に記載の酵母細胞。
【請求項１３８】　前記酵母株が、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ、Ｈａｎｓｅｎｕｌａ、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ、ＹａｒｒｏｗｉａおよびＣａｎｄｉｄａからなる群より選択される属の株である、請求項１３５に記載の酵母細胞。
【請求項１３９】　ポリペプチド提示酵母細胞であって、以下：
ポリペプチドが、酵母細胞壁タンパク質に融合されており、該融合ポリペプチドが、特定のリガンドに結合可能である；および
該特定のリガンドに結合している該融合ポリペプチドのアビディティおよび特異性を測定するための手段
を含む改善がなされている、ポリペプチド提示酵母細胞。
【請求項１４０】　融合タンパク質提示酵母細胞であって、以下：
該融合タンパク質が、そのＮ末端で第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合された変異リガンド結合タンパク質を含み、該第１のエピトープタグ配列のＮ末端が、アグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該変異リガンド結合タンパク質が、そのＣ末端で第２のエピトープタグに結合されており、該Ａｇａ２ｐが、該酵母細胞表面上で２つのジスルフィド結合によってアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに結合されている
を含む改善がなされている、融合タンパク質提示酵母細胞。
【請求項１４１】　融合タンパク質提示酵母細胞であって、以下：
該融合タンパク質が、そのＮ末端で第１のエピトープタグ配列のＣ末端に結合された変異Ｔ細胞結合タンパク質を含み、該第１のエピトープタグ配列のＮ末端が、アグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該Ｔ細胞結合タンパク質配列が、そのＣ末端で第２のエピトープタグに結合されており、該Ａｇａ２ｐが、該酵母細胞表面上で２つのジスルフィド結合によってアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに結合されている
を含む改善がなされている、融合タンパク質提示酵母細胞。
【請求項１４２】　融合タンパク質提示酵母細胞であって、以下：
該融合タンパク質が、そのＮ末端で第１のエピトープタグ配列のＣ末端に抗原特異的に結合可能な変異抗体またはそのフラグメントを含み、該第１のエピトープタグ配列のＮ末端が、アグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合され、該抗体またはフラグメントが、そのＣ末端で第２のエピトープタグに結合されており、該Ａｇａ２ｐが、該酵母細胞表面上で２つのジスルフィド結合によってアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに結合されている
を含む改善がなされている、融合タンパク質提示酵母細胞。
【請求項１４３】　酵母細胞表面上で１つより多くの異なるポリペプチドを提示する方法であって、該方法は、以下：
酵母細胞を、酵母細胞壁タンパク質に融合された提示されるべきタンパク質を発現するベクターを用いて、形質転換する工程であって、ここで、該タンパク質は、そのＮ末端でアグルチニンサブユニットＡｇａ２ｐ配列のＣ末端に結合されたリガンド結合ポリペプチド配列からなるアミノ酸配列を有し、該Ａｇａ２ｐが、該酵母細胞表面上で２つのジスルフィド結合によってアグルチニンサブユニットＡｇａ１ｐに結合されている、工程
を包含する、方法。
【請求項１４４】　前記ポリペプチドは、提示可能な生物のポリペプチドからなる群より選択される１つ以上のポリペプチドである、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１４５】　提示される少なくとも１つのタンパク質が、Ｔ細胞レセプターま

たはそのフラグメントである、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１４６】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが、単鎖Ｔ細胞レセプターである、請求項１４５に記載の方法。
【請求項１４７】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが、変異誘発されている、請求項１４５に記載の方法。
【請求項１４８】　前記アミノ酸配列が、前記Ａｇａ２ｐとポリペプチド配列との間に、第１のエピトープタグ配列をさらに含む、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１４９】　前記アミノ酸配列が、前記ポリペプチド配列のＣ末端に連結された、第２のエピトープタグ配列をさらに含む、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５０】　標識が前記第２のエピトープタグに結合されている、請求項１４９に記載の方法。
【請求項１５１】　前記生物が哺乳動物である、請求項１４４に記載の方法。
【請求項１５２】　標識が少なくとも１つのリガンド結合ポリペプチド配列に結合されている、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５３】　前記リガンド結合ポリペプチド配列が、機能的抗体および細胞表面レセプターおよびそのフラグメントからなる群より選択される、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５４】　前記リガンド結合ポリペプチド配列が、抗Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１５３に記載の方法。
【請求項１５５】　前記抗Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが、配列番号２１、配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４からなる群より選択される、請求項１５４に記載の方法。
【請求項１５６】　少なくとも１つのポリペプチドが、特定のリガンドに結合可能である、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５７】　少なくとも１つのポリペプチド配列が、関連する野生型ポリペプチドの変異体である、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５８】　前記酵母菌株が、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｐｉｃｈｉａ、Ｈａｎｓｅｎｕｌａ、Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ、Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ、ＹａｒｒｏｗｉａおよびＣａｎｄｉｄａからなる群より選択される属からの菌株である、請求項１４３に記載の方法。
【請求項１５９】　請求項１４３に記載の方法であって、ここで、前記ベクターは発現カセットを含み、
各該発現カセットは以下：
ＧＡＬ　１－１０プロモーター
Ａｇａ２ｐコード配列
＊
—
ポリペプチドコード配列
‡
の構造を含有し、「＊」は何もなしかまたは第一のエピトープタグであり、そして「‡」は、何もなしかまたは第二のエピトープタグである、方法。
【請求項１６０】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号１、配列番号２、配列番号３、配列番号４、配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８および配列番号９からなる群より選択される、請求項１５９に記載の方法。
【請求項１６１】　少なくとも１つのエピトープタグが配列番号１である、請求項１６０に記載の方法。
【請求項１６２】　少なくとも１つのエピトープタグが配列番号２である、請求項１６０に記載の方法。
【請求項１６３】　前記第１のエピトープタグが配列番号１であり、かつ前記第２のエピトープタグが配列番号２である、請求項１６０に記載の方法。
【請求項１６４】　少なくとも１つのポリペプチドが変異体ポリペプチドである、請

求項１５９に記載の方法。
【請求項１６５】　前記リガンド結合ポリペプチドが、抗原特異的結合が可能である抗体またはそのフラグメントである、請求項１５９に記載の方法。
【請求項１６６】　少なくとも１つの抗体またはそのフラグメントが、配列番号２１、配列番号２２、配列番号２３および配列番号２４からなる群より選択される抗Ｔ細胞フラグメントである、請求項１６５に記載の方法。
【請求項１６７】　少なくとも１つの抗体またはそのフラグメントが、単鎖抗体である、請求項１６５に記載の方法。
【請求項１６８】　少なくとも１つのリガンド結合ポリペプチドが、レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１６５に記載の方法。
【請求項１６９】　前記レセプターまたはそのフラグメントが、細胞表面レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１６８に記載の方法。
【請求項１７０】　前記細胞表面レセプターまたはそのフラグメントが、Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１６９に記載の方法。
【請求項１７１】　前記細胞表面レセプターまたはそのフラグメントが、変異体Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントである、請求項１６９に記載の方法。
【請求項１７２】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそのフラグメントが、配列番号２４である、請求項１７０に記載の方法。
【請求項１７３】　リガンド結合タンパク質の野生型に比較して、増強された結合特性を有する、改変体リガンド結合タンパク質を提示する酵母細胞を産生するためのキットであって、該キットは、以下：
変異ポリペプチドをコードするランダムに変異された遺伝子のライブラリーの個々のメンバーに共有結合され得る発現カセットであって、該カセットは、各々、
５’－ＧＡＬ　１－１０－－ＡＧＡ２ｐ－変異ポリペプチド
の構造を有する、発現カセット；
該発現カセットを受容し得るベクターであって；
該ベクターは、多様な形質転換された酵母細胞を得るために酵母細胞とともに使用可能であって、該形質転換された酵母細胞において該カセットを発現し得、これにより該リガンド結合タンパク質が、該酵母細胞の各々の表面上に提示され、該提示されたリガンド結合タンパク質が、該変異結合タンパク質のうちの１つを含有する、ベクター；
特定の標識を、該提示されたタンパク質に結合することにより、該酵母細胞上の提示されたタンパク質を標識するための標識であって、該標識は、該酵母細胞をそれらの標識の特性により識別するために使用される場合にフローサイトメトリーにより読み取り可能である、標識；
該識別された細胞における該リガンド結合タンパク質の表面発現レベルを決定するための、そして該識別された細胞の表面における該リガンド結合タンパク質のリガンド結合特性を決定し、それにより増強された結合特性を示す大量のリガンド結合タンパク質を発現する少なくとも１つの好ましい酵母細胞が同定され、そして該少なくとも１つの好ましい酵母細胞をクローニングするための、指示書、
を包含する、キット。
【請求項１７４】　順番に、以下：
ＧＡＬ　１－１０プロモーター
Ａｇａ２ｐ
＊
―
ポリペプチド
‡
を含有する遺伝子発現カセットであって、「＊」は何もなしかまたは第一のエピトープタグであり、そして「‡」は、何もなしかまたは第二のエピトープタグである、遺伝子発現カセット。
【請求項１７５】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号１；配列番号２；

配列番号３；配列番号４；配列番号５；配列番号６；配列番号７；配列番号８および配列番号９からなる群より選択される、請求項１７４に記載の遺伝子発現カセット。

【請求項１７６】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号１である、請求項１７４に記載の遺伝子発現カセット。

【請求項１７７】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号２である、請求項１７４に記載の遺伝子発現カセット。

【請求項１７８】　前記第一のエピトープタグが配列番号１であり、かつ前記第二のエピトープタグが配列番号２である、請求項１７４に記載の遺伝子発現カセット。

【請求項１７９】　前記ポリペプチドが変異ポリペプチドである、請求項１７４に記載のカセット。

【請求項１８０】　前記ポリペプチドが、リガンド結合ポリペプチドである、請求項１７４に記載のカセット。

【請求項１８１】　前記リガンド結合ポリペプチドが、抗原特異的に結合可能な抗体またはそれらのフラグメントである、請求項１８０に記載のカセット。

【請求項１８２】　前記抗体またはそれらのフラグメントが、配列番号２１；配列番号２２；配列番号２３；および配列番号２４からなる群より選択される抗Ｔ細胞フラグメントである、請求項１８１に記載のカセット。

【請求項１８３】　前記抗体またはそれらのフラグメントが、単鎖抗体の結合部位である、請求項１８１に記載のカセット。

【請求項１８４】　前記リガンド結合ポリペプチドが、レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項１７４に記載のカセット。

【請求項１８５】　前記レセプターが、細胞表面レセプターである、請求項１８４に記載のカセット。

【請求項１８６】　前記細胞表面レセプターまたはそれらのフラグメントが、Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項１８５に記載のカセット。

【請求項１８７】　前記細胞表面レセプターまたはそれらのフラグメントが、変異Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項１８５に記載のカセット。

【請求項１８８】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントが、配列番号２４である、請求項１８７に記載のカセット。

【請求項１８９】　酵母細胞を形質転換するためのベクターであって、該ベクターは請求項１７４に記載の発現カセットを含有する、ベクター。

【請求項１９０】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号１；配列番号２；配列番号３；配列番号４；配列番号５；配列番号６；配列番号７；配列番号８；および配列番号９からなる群より選択される、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９１】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号１である、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９２】　少なくとも１つのエピトープタグが、配列番号２である、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９３】　前記第一のエピトープタグが配列番号１であり、かつ前記第二のエピトープタグが、配列番号２である、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９４】　前記ポリペプチドが変異ポリペプチドである、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９５】　前記ポリペプチドが、リガンド結合ポリペプチドである、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９６】　前記リガンド結合ポリペプチドが、抗原特異的に結合可能な抗体またはそれらのフラグメントである、請求項１８９に記載のベクター。

【請求項１９７】　前記抗体またはそれらのフラグメントが、配列番号２１；配列番号２２；配列番号２３；および配列番号２４からなる群より選択される抗Ｔ細胞フラグメントである、請求項１９５に記載のベクター。

【請求項１９８】　前記抗体またはそれらのフラグメントが、単鎖抗体の結合部位で

ある、請求項１９６に記載のベクター。

【請求項１９９】　前記リガンド結合ポリペプチドが、レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項１９５に記載のベクター。

【請求項２００】　前記レセプターが、細胞表面レセプターである、請求項１９９に記載のベクター。

【請求項２０１】　前記細胞表面レセプターまたはそれらのフラグメントが、Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項２００に記載のベクター。

【請求項２０２】　前記細胞表面レセプターまたはそれらのフラグメントが、変異Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントである、請求項２００に記載のベクター。

【請求項２０３】　前記Ｔ細胞レセプターまたはそれらのフラグメントが、配列番号２４である、請求項２０２に記載のベクター。