

【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 26 年 3 月 13 日 (2014.3.13)

【公表番号】特表 2013-517761 (P2013-517761A)
 【公表日】平成 25 年 5 月 20 日 (2013.5.20)
 【年通号数】公開・登録公報 2013-025
 【出願番号】特願 2012-549441 (P2012-549441)
 【国際特許分類】

C 1 2 N 1/19 (2006.01)
 C 1 2 N 15/09 (2006.01)
 C 4 0 B 40/02 (2006.01)
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)
 C 1 2 P 21/08 (2006.01)
 C 0 7 K 19/00 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 1/19
 C 1 2 N 15/00 Z N A A
 C 4 0 B 40/02
 C 1 2 P 21/02 C
 C 1 2 P 21/08
 C 0 7 K 19/00

【手続補正書】
 【提出日】平成 26 年 1 月 20 日 (2014.1.20)
 【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】

発現カセットを含む Y a r r o w i a 細胞であって、該発現カセットは、融合配列に作動可能に連結された第 1 のプロモーターを含み、該融合配列は、

アンカーポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むアンカーポリヌクレオチド配列にインフレームで融合した、第 1 の抗体ポリペプチドまたは第 1 の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第 1 の核酸配列、
 を含み、該第 1 の抗体ポリペプチド断片は抗体可変 (V) 領域を含む、Y a r r o w i a 細胞。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の細胞であって、該細胞は、以下：

(i) 前記第 1 の抗体ポリペプチド断片が s c F v 断片である；

(i i) 前記第 1 の抗体ポリペプチドまたは該第 1 の抗体ポリペプチド断片が F a b 重鎖または F a b 軽鎖である；

(i i i) 該細胞は、第 2 の発現カセットをさらに含み、該第 2 の発現カセットは、第 2 の抗体ポリペプチドまたは第 2 の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第 2 の核酸配列に作動可能に連結された第 2 のプロモーターを含み、該第 2 の抗体ポリペプチド断片が抗体可変 (V) 領域を含む；

(i v) 該細胞は、請求項 2 (i i i) に記載の細胞であり、前記第 1 のプロモーターおよび前記第 2 のプロモーターが同じプロモーターである；

(v) 該細胞は、請求項 2 (i i i) または (i v) に記載の細胞であり、該第 1 の抗体ポリペプチドまたは該第 1 の抗体ポリペプチド断片が抗体 F a b 断片の重鎖であり、該第 2 の抗体ポリペプチドまたは該第 2 の抗体ポリペプチド断片が抗体 F a b 断片の軽鎖である；

(v i) 該細胞は、請求項 2 (i v) または (v) に記載の細胞であり、該第 1 の抗体ポリペプチドまたは該第 1 の抗体ポリペプチド断片が抗体 F a b 断片の軽鎖であり、該第 2 の抗体ポリペプチドまたは該第 2 の抗体ポリペプチド断片が抗体 F a b 断片の重鎖である；

(v i i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (v i) のいずれかに記載の細胞であり、前記アンカーポリヌクレオチド配列が前記第 1 の核酸配列の 3' に融合しており、ここで、該融合配列から産生された融合ポリペプチドが、N 末端の抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片および C 末端のアンカーポリペプチドを含む；

(v i i i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (v i) のいずれかに記載の細胞であり、該アンカーポリヌクレオチド配列が該第 1 の抗体核酸配列の 5' に融合しており、ここで、該融合配列から産生される融合ポリペプチドが、N 末端のアンカーポリペプチドおよび C 末端の抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片を含む；

(i x) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (v i) のいずれかに記載の細胞であり、該第 1 のプロモーターは、構成的である；

(x) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (v i i i) のいずれかに記載の細胞であり、該第 1 のプロモーターは、誘導性である；

(x i) 該細胞は、請求項 2 (x) に記載の細胞であり、該第 1 のプロモーターは、P O X 2 プロモーターまたは L I P 2 プロモーターである；

(x i i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (v i i i) のいずれかに記載の細胞であり、該第 1 のプロモーターは、半構成的である；

(x i i i) 該細胞は、請求項 2 (x i i) に記載の細胞であり、該第 1 のプロモーターは、h p 4 d プロモーターである；

(x i v) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x i i i) のいずれかに記載の細胞であり、該細胞は、リーダーポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むリーダー核酸配列をさらに含み、該リーダー核酸配列は、該アンカーポリヌクレオチド配列および該第 1 の核酸配列とインフレイムで融合し、かつ該アンカーポリヌクレオチド配列および該第 1 の核酸配列の 5' にインフレイムで融合している；

(x v) 該細胞は、請求項 2 (x i v) に記載の細胞であり、該リーダーポリペプチドは、L I P 2 p r e、L I P 2 p r e p r o、X P R 2 p r e、および X P R 2 p r e p r o からなる群から選択される；

(x v i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x v) のいずれかに記載の細胞であり、リンカーポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むリンカー核酸配列をさらに含む；

(x v i i) 該細胞は、請求項 2 (x v i) に記載の細胞であり、該リンカー核酸配列は、該アンカーポリヌクレオチド配列と該第 1 の核酸配列との間にインフレイムで融合している；

(x v i i i) 該細胞は、請求項 2 (x v i) に記載の細胞であり、該リンカー核酸配列は、重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む核酸配列と、軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む核酸配列との間にインフレイムで融合している；

(x i x) 該細胞は、請求項 2 (x v i i i) に記載の細胞であり、重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む該核酸配列は、F a b 断片の重鎖をコードするヌクレオチド配列を含む；

(x x) 該細胞は、請求項 2 (x v i i i) または (x i x) に記載の細胞であり、軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む該核酸配列は、軽鎖をコードするヌクレオチド配列を含む；

(x x i) 該細胞は、請求項 2 (x v i) ~ (x x) のいずれかに記載の細胞であり、該

リンカーポリペプチドは、(G l y 4 S e r) 3 (配列番号 1 4) または (G l y S e r) 5 (配列番号 1 5) を含む；

(x x i i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x x i) のいずれかに記載の細胞であり、該発現カセットは、1 つまたは複数のさらなる核酸配列をさらに含み、該さらなる核酸配列の各々が、1 つまたは複数のエピトープタグをコードするヌクレオチド配列を含む；

(x x i i i) 該細胞は、請求項 2 (x x i i) に記載の細胞であり、該 1 つまたは複数のエピトープタグは、c - M y c、V 5、ヘキサヒスチジン、グルタチオン - S - トランスフェラーゼ、ストレプトアビジン、ビオチン、赤血球凝集素、F l a g - タグ、および E - タグからなる群から選択される；

(x x i v) 該細胞は、請求項 1 の細胞または請求項 2 (i) ~ (x x i i i) のいずれかに記載の細胞であり、該アンカーポリペプチドは、A g a 1 p ポリペプチドまたはその断片、A g a 2 p ポリペプチドまたはその断片、および S a g 1 p ポリペプチドまたはその断片からなる群から選択される；

(x x v) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x x i i i) のいずれかに記載の細胞であり、該細胞における 1 つまたは複数の発現カセット内の 1 つまたは複数コード配列が、Y a r r o w i a 細胞における発現のためにコドン最適化されている；

(x x v i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x x i v) のいずれかに記載の細胞であり、該細胞に導入された 1 つまたは複数の発現カセットは、各々ベクター中にある；

(x x v i i) 該細胞は、請求項 2 (x x v i) に記載の細胞であり、該ベクターの 1 つまたは複数にはゼータエレメントをさらに含む；

(x x v i i i) 該細胞は、請求項 2 (x x v i i) に記載の細胞であり、該ゼータエレメントは、レトロトランスポソンの長い末端反復である；

(x x i x) 該細胞は、請求項 2 (x x v i i i) に記載の細胞であり、該ゼータエレメントは、Y l t 1 または T y l 6 レトロトランスポソンの長い末端反復である；

(x x x) 該細胞は、請求項 1 の細胞または請求項 2 (x x v i) ~ (x x i x) のいずれかに記載の細胞であり、該細胞における該ベクターの 1 つまたは複数、1 つまたは複数の常染色体複製エレメントをさらに含む；

(x x x i) 該細胞は、請求項 2 (x x x) に記載の細胞であり、少なくとも一つの常染色体複製エレメントは、セントロメア (C E N) および複製起点 (O R I) を含む；

(x x x i i) 該細胞は、請求項 2 (x x x i) に記載の細胞であり、該セントロメアは、C E N 1 または C E N 3 であり、該複製起点は、O R I 1 0 6 8 または O R I 3 0 1 8 である；

(x x x i i i) 該細胞は、請求項 1 に記載の細胞または請求項 2 (i) ~ (x x x i) のいずれかに記載の細胞であり、該細胞における該ベクターの 1 つまたは複数、各々、自律複製配列 (A R S) をさらに含み、該 A R S がセントロメアおよび複製起点を含む；

(x x x i v) 該細胞は、請求項 2 (x x x i i i) に記載の細胞であり、該 A R S は A R S 1 8 である；

(x x x v) 該細胞は、請求項 2 (x x x i i i) に記載の細胞であり、該 A R S は A R S 6 8 である；

(x x x v i) 該細胞は、請求項 2 (x x v i) ~ (x x x v) のいずれか一つに記載の細胞であり、該細胞における該ベクターの 1 つまたは複数、1 つまたは複数のさらなる核酸配列をさらに含み、該さらなる核酸配列の各々が、1 つまたは複数の選択マーカーをコードするヌクレオチド配列を含む；

(x x x v i i) 該細胞は、請求項 2 の (x x x v i) に記載の細胞であり、該 1 つまたは複数の選択マーカーは、L E U 2 (ロイシン選択マーカー)、U R A 3 d 1 (ウラシル選択マーカー)、A D E 2 (アデニン選択マーカー)、L y s (リシン選択マーカー)、A r g (アルギニン選択マーカー)、G u t (グリセロール利用選択マーカー)、T r p

(トリプトファン選択マーカー)、G3p(グリセロール-3-リン酸選択マーカー)、およびhph(ハイグロマイシンBホストランスフェラーゼ選択マーカー)からなる群より選択される；

(xxxviii)該細胞は、請求項1に記載の細胞または請求項2(i)~(xxviii)のいずれかに記載の細胞であり、該細胞は、一倍体細胞である；

(xxix)該細胞は、請求項1に記載の細胞または請求項2(i)~(xxviii)のいずれかに記載の細胞であり、該細胞は、二倍体細胞である；

からの特徴を有する、細胞。

【請求項3】

Yarrowia細胞において抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片を発現させる方法であって、該方法は、第1のYarrowia細胞を誘導インキュベートする工程を含み、ここで、該第1のYarrowia細胞は、

(a)融合配列に作動可能に連結された第1のプロモーターを含む第1のベクターであって、該融合配列は、アンカーポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むアンカーポリヌクレオチド配列にインフレイムで融合した、第1の抗体ポリペプチドまたは第1の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第1の抗体核酸配列を含み、該第1の抗体ポリペプチド断片は抗体可変(V)領域を含む、第1のベクター；または

(b)第1の抗体ポリペプチドまたは第1の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第1の抗体核酸配列に作動可能に連結された第1のプロモーターを含む第1のベクター

を含む、方法。

【請求項4】

請求項3に記載の方法であって、該方法は、以下に列挙される特徴：

(i)前記第1のYarrowia細胞が(a)を含み、前記第1の核酸配列のヌクレオチド配列が、抗体ポリペプチド断片をコードし、該抗体ポリペプチド断片が、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、ここで、第1の抗体ポリペプチド断片が、抗体可変(V)領域を含み、ここで、前記誘導インキュベーション後、該第1の抗体ポリペプチド断片が、該第1のYarrowia細胞の表面に発現される；

(ii)該第1のYarrowia細胞が(a)を含み、かつ該第1のYarrowia細胞に第2のベクターを導入することによって第2のYarrowia細胞へ変換されており、該第2のベクターが、第2の抗体ポリペプチドまたは第2の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第2の核酸配列に作動可能に連結された第2のプロモーターを含み、該第2の抗体ポリペプチド断片が、抗体可変(V)領域を含み、ここで該誘導インキュベーション後、該第1の抗体ポリペプチドまたは第1の抗体ポリペプチド断片および該第2の抗体ポリペプチドまたは該第2の抗体ポリペプチド断片を含む分子が、該第2のYarrowia細胞の表面上に発現される；

(iii)該方法は、請求項3に記載の方法であり、該第1のYarrowia細胞が(b)を含み、かつ該第1のYarrowia細胞に第2のベクターを導入することによって第2のYarrowia細胞へ変換されており、該第2のベクターが、融合配列に作動可能に連結された第2のプロモーターを含み、該融合配列が、アンカーポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むアンカーポリヌクレオチド配列にインフレイムで融合した、第2の抗体ポリペプチドまたは第2の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第2の核酸配列を含み、ここで、該誘導インキュベーション後、該第1の抗体ポリペプチドまたは第1の抗体ポリペプチド断片および該第2の抗体ポリペプチドまたは該第2の抗体ポリペプチド断片を含む分子が、該第2のYarrowia細胞の表面上に発現される；

(iv)該方法は、請求項4の(ii)または(iii)に記載の方法であり、該第1のプロモーターおよび第2のプロモーターは、同一のプロモーターである；

(v)該誘導インキュベーションは、2つまたはそれより多くのYarrowia作動条件下にある；

(v i) 該方法は、請求項 3 または請求項 4 の (i) もしくは (v) のいずれかに記載の方法であり、該抗体ポリペプチド断片は、s c F v 断片である；

(v i i) 該方法は、請求項 4 の (i i i) もしくは (i v) のいずれかに記載の方法であり、該第 1 の抗体ポリペプチドまたは該第 1 の抗体ポリペプチド断片が、抗体重鎖可変領域または抗体軽鎖可変領域を含み、該分子が、抗体重鎖可変領域および抗体軽鎖可変領域を含む；

(v i i i) 該方法は、請求項 4 の (v i i) に記載の方法であり、該第 1 の抗体ポリペプチドまたは該第 1 の抗体ポリペプチド断片は：

F a b 重鎖もしくは重鎖 V - C H 1 断片、または
抗体軽鎖；

を含み、該分子は、

F a b 重鎖もしくは重鎖 V - C H 1 断片、および
抗体軽鎖

を含む；

(i x) 該方法は、請求項 3 または請求項 4 の (i i)、(i i i)、(i v) および (v i i) のいずれかに記載の方法であり、該第 2 の抗体ポリペプチドまたは該第 2 の抗体ポリペプチド断片は、抗体重鎖可変領域または抗体軽鎖可変領域を含み、該分子は、抗体重鎖可変領域および抗体軽鎖可変領域を含む；

(x) 該方法は、請求項 4 の (i x) に記載の方法であり、該第 2 の抗体ポリペプチドまたは該第 2 の抗体ポリペプチド断片が、

F a b 重鎖もしくは重鎖 V - C H 1 断片、または
抗体軽鎖

を含み、該分子が、

F a b 重鎖もしくは重鎖 V - C H 1 断片、および
抗体軽鎖

を含む；

(x i) 該方法は、請求項 4 の (i i) ~ (v)、(v i i)、(v i i i)、(i x)、および (x) のいずれかに記載の方法であり、該分子は、F a b 断片である；

(x i i) 該方法は、請求項 4 の (i i) ~ (v)、および (v i i) ~ (x i) のいずれかに記載の方法であり、該第 1 の Y a r r o w i a 細胞が一倍体であり、該第 2 のベクターの該第 1 の細胞への導入が、前記第 1 のベクターを含む該第 1 の一倍体 Y a r r o w i a 細胞を、該第 2 のベクターを含むドナー一倍体 Y a r r o w i a 細胞と接合させる工程を含み、該第 1 の Y a r r o w i a 細胞と該ドナー Y a r r o w i a 細胞とが反対の接合型である；

(x i i i) 該方法は、請求項 3 または請求項 4 の (i) ~ (x i i) のいずれかに記載の方法であり、該アンカーポリヌクレオチド配列にインフレームで融合した、抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む該核酸配列が、該アンカーポリヌクレオチド配列の 5 ' に融合しており、ここで、該融合配列から産生される融合ポリペプチドが、N 末端の抗体ポリペプチドまたはその抗体ポリペプチド断片および C 末端のアンカーポリペプチドを含む；

(x i v) 該方法は、請求項 3 および請求項 4 の (i) ~ (x i i) のいずれか一項に記載の方法であり、該アンカーポリヌクレオチド配列にインフレームで融合した、抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む該核酸配列が、該アンカーポリヌクレオチド配列の 3 ' に融合しており、ここで、該融合配列から産生される融合ポリペプチドが、N 末端のアンカーポリペプチドおよび C 末端の抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片を含む；

(x v) 該方法は、請求項 4 の (v i i) ~ (x i v) に記載の方法であり、該 Y a r r o w i a 細胞作動条件が低い温度でのインキュベーションを含む；

(x v i) 該方法は、請求項 4 の (x v) に記載の方法であり、該低い温度が、約摂氏 15 度から摂氏 25 度の温度を含む；

(x v i i) 該方法は、請求項 4 の (x v) または (x v i) に記載の方法であり、該低い温度が、約摂氏 20 度の温度を含む；

(x v i i i) 該方法は、請求項 4 の (x v) ~ (x v i i) に記載の方法であり、該低い誘導温度が、約摂氏 16 度の温度を含む；

(x i x) 該方法は、請求項 4 の (x v) ~ (x v i i i) のいずれか一つに記載の方法であり、該 Y a r r o w i a 細胞作動条件が短いインキュベーション時間を含む；

(x x) 該方法は、請求項 4 の (x i x) に記載の方法であり、該短い時間が約 24 時間以下である；

(x x i) 該方法は、請求項 4 の (x x) または (x x i) に記載の方法であり、該短い時間が約 16 時間以下である；

(x x i i) 該方法は、請求項 4 の (x x i) に記載の方法であり、該短い時間が約 16 時間である；

(x x i i i) 該方法は、請求項 4 の (v) ~ (x x i i) のいずれか一つに記載の方法であり、該 Y a r r o w i a 細胞作動条件が低い pH の培養培地を含む；

(x x i v) 該方法は、請求項 4 の (x x i i i) に記載の方法であり、該低い pH が約 2 から約 4 の pH である；

(x x v) 該方法は、請求項 4 の (x x i i i) または (x x i v) に記載の方法であり、該低い pH が約 3 の pH である；

(x x v i) 該方法は、請求項 4 の (v) ~ (x x i v) のいずれかに記載の方法であり、該 Y a r r o w i a 細胞作動条件が高い通気条件を含む；

(x x v i i) 該方法は、請求項 4 の (x x v i) に記載の方法であり、該高い通気条件が振盪フラスコ内でのインキュベーションを含む；

(x x v i i i) 該方法は、請求項 4 の (v) ~ (x x v i i) のいずれか一つに記載の方法であり、該 Y a r r o w i a 細胞作動条件が、最少培地中でインキュベートすることを含む；

(x x i x) 該方法は、請求項 4 の (x x v i i i) に記載の方法であり、該最少培地が、酵母抽出物、B a c t o ペプトン、またはその両方を欠く培地である；

(x x x) 該方法は、請求項 3 または請求項 4 の (i) ~ (x x i x) のいずれかに記載の方法であり、第 1 のベクターが Y a r r o w i a ゲノムへ組み込まれる；

(x x x i) 該方法は、請求項 4 の (i i) ~ (i v) および (v i i) ~ (x x x) のいずれかに記載の方法であり、該第 2 のベクターが該 Y a r r o w i a ゲノムへ組み込まれる；

(x x x i i) 該方法は、請求項 3 または請求項 4 の (i) ~ (x x x i) のいずれかに記載の方法であり、該第 1 の Y a r r o w i a 細胞、該第 2 の Y a r r o w i a 細胞、またはその両方の Y a r r o w i a 細胞がシャペロンを発現する；

(x x x i i i) 該方法は、請求項 4 の (x x x i i) に記載の方法であり、該シャペロンが、タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ、K a r 2 / B i p (免疫グロブリン結合タンパク質)、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される；

(x x x i v) 該方法は、請求項 3 に記載の方法または請求項 4 の (i) ~ (x x x i i i) のいずれかに記載の方法であって、該アンカーポリペプチドが、A g a (接合型 A 凝集素) 1 p ポリペプチドもしくはその断片、A g a 2 p ポリペプチドもしくはその断片、または S a g (S . c e r e v i s i a e 凝集素) 1 p ポリペプチドもしくはその断片からなる群より選択される；

からの特徴を有する、細胞。

からの特徴を有する、方法。

【請求項 5】

請求項 3 または請求項 4 に記載の方法によって得られる抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片。

【請求項 6】

標的ポリペプチドを結合する抗体ポリペプチドまたは抗体ポリペプチド断片を含む Y a r

rowia細胞を選択する方法であって、該方法は、

親Yarrowia細胞を試験ポリペプチドと接触させる工程であって、ここで、該親Yarrowia細胞は、第1の抗体ポリペプチドまたは第1の抗体ポリペプチド断片を含む分子をその表面上にディスプレイし、ここで、該親Yarrowia細胞は、該第1の抗体ポリペプチドまたは該第1の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第1の核酸配列を含む第1の発現カセットを含み、該第1の抗体ポリペプチド断片は抗体可変(V)領域を含む、工程；ならびに

ディスプレイされた該分子が該標的ポリペプチドを結合する場合に、該親Yarrowia細胞を選択する工程を含む、方法。

【請求項7】

請求項6に記載の方法であって、以下に列挙される特徴：

(i) 前記親Yarrowia細胞および第2のYarrowia細胞が、第2の発現カセットをさらに含み、該第2の発現カセットが、第2の抗体ポリペプチドまたは第2の抗体ポリペプチド断片をコードするヌクレオチド配列を含む第2の核酸配列を含み、前記分子が、該第2の抗体ポリペプチドまたは該第2の抗体ポリペプチド断片をさらに含み、該第2の抗体ポリペプチド断片が、抗体可変(V)領域を含む；

(ii) 該方法は、請求項6または請求項7(i)に記載の方法であり、該親Yarrowia細胞が、請求項3または4のいずれかに記載の方法によって産生される；

(iii) 該方法は、請求項6または請求項7(i)もしくは(ii)に記載の方法であり、該方法は、

選択された該親Yarrowia細胞から、前記第1の発現カセットを単離する工程、
該ヌクレオチド配列に1つまたは複数の変化を導入して、改変型発現カセットを作製する工程、

該第1の発現カセットを欠く第2のYarrowia細胞へ該改変型発現カセットを導入して、改変型Yarrowia細胞を作製する工程、

該改変型Yarrowia細胞を誘導インキュベートする工程、

該改変型Yarrowia細胞を前記標的ポリペプチドと接触させる工程、および

該改変型Yarrowia細胞が、該親Yarrowia細胞より高い親和性またはアビディティで該標的ポリペプチドを結合する場合に、該改変型Yarrowia細胞を選択する工程

をさらに含む；

(iv) 該方法は、請求項7(iii)に記載の方法であり、該誘導インキュベーションが、1つまたは複数のYarrowia作動条件下にある；

からの特徴を有する、方法。

【請求項8】

請求項1または2に記載の細胞を含むキット。

【請求項9】

前記細胞を用いるための書面による使用説明書をさらに含む、請求項8に記載のキット。