

## 효모의 접합과정에 관여하는 유전자의 연구

장광엽, 박문국\*, 정봉우\*\*

전북대학교 생물학과

\*전북대학교 생물교육학과

\*\*전북대학교 화공공학과

## Genes involved in mating processes of *Saccharomyces cerevisiae*

Jahng, Kwang-Yeop, Moon-Kook Park\* and Bong-Woo Cheong\*\*

Department of Biology, College of Natural Sciences, Jeonbuk National University

\*Department of Biology Education, College of Education, Jeonbuk National University

\*\*Department of Chemical Technology, College of Engineering, Jeonbuk National University

**ABSTRACT:** In order to elucidate and characterize the signal transduction pathway(s) whereby yeast cells respond to mating pheromone, we have isolated mutants which are able to conjugate in the absence of the *alpha*-factor receptor. Sixty-one suppressors of a *ste2*-deletion mutation which also confer a ts conditional "start" arrest phenotype have been subjected to genetic analysis. The mutants could be assigned to three complementation groups designated *CDC70*, *CDC72* and *CDC73*, which are unlinked to each other as well as to the previously identified start genes. Quantitation of mating ability of the *cdc70*, *cdc72* and *cdc73* mutations in a *ste2*-deletion background gives levels ranging from 0.1% to 0.3% of wild type, depending on the allele and the gene. The results indicate that the signals from mating pheromone might be mediated by the *CDC70*, *CDC72* and *CDC73* products.

**KEY WORDS** □ *Saccharomyces cerevisiae*, mating pheromone signal, *CDC*.

효모 *Saccharomyces cerevisiae*의 세포형(cell type)은 haploid인 *a*-형과  $\alpha$ -형 두 가지와 *a*-형과  $\alpha$ -형이 mating하여 형성된 diploid인 *a/a*-형 등 세 가지가 존재한다. 두 종류의 haploid 세포가 mating을 하기 위해서는 상대편 세포가 분비하는 mating pheromone (*a*-형은 *a*-factor를,  $\alpha$ -형은  $\alpha$ -factor를 분비함)에 의해서 vegetative 세포가 mating과정에 필요한 gamete로 유도되어야만 한다(Thorner 1981; Bücking-Throm *et al.*, 1973). 즉, mating pheromone이 상대편 haploid세포에 자극을 줌으로써 mating에 수반되는 여러가지 세포내 변화가 초래된다고 할 수 있다. gamete상태로 변하는 현상의 실례를 들면 세포의 분열이 G1단계에서 중지되고(Hartwell *et al.*, 1974; Hartwell and Unger 1977), 세포의 모양이 변형(소위 'shmoo'라 일컬음)되며(Hartwell 1967; Levi 1956), 세포 표면에 응집원(agglutinin)이 축적되고(Betz *et al.*, 1978; Terrance and Lipke 1981), mating에 필요한 유전자들의 transcription이 증가되는 현상 등이다(Baffi *et al.*, 1984; Hagen

*et al.*, 1986; Hagen and Sprague 1984).

Mackay and Manney(1974)는 mating을 수행할 수 없는 mutant들을 분리한 후, 유전학적 분석을 실시하여 mating과정이 상당히 복잡한 여러 단계를 거쳐서 완성된다는 것을 암시한 바 있다. 효모의 mating pheromone system은 진핵생물 중 자극원으로서 pheromone과 수용체에 대하여 돌연변이를 이용한 유전학적 분석이 이루어져 있으며 또한 그들을 coding하는 유전자들이 분리되어 성질들이 보고 되어 있다(Thorner 1981; Herskowitz and Oshima 1981). 즉, 전술한 바와 같이 *a* 또는  $\alpha$ -형 세포가 분비하는 mating pheromone을 수용하는 수용체가 각각의 상대편 세포 표면에 존재하는데 이들은 *STE2* (*a*-형 세포에서만 발현되며  $\alpha$ -pheromone의 수용체를 coding함)와 *STE3*( $\alpha$ -형 세포에서만 발현되며 *a* pheromone의 수용체를 coding함)에 의해서 coding된다(Hagen and Sprague 1984; Hartig *et al.*, 1986; Nakayama *et al.*, 1985). 따라서 효모의 mating과정은 pheromone이 수용체에

자극(또는 signal)을 전달함으로써 시작된다.

본 연구에서는 효모의 mating 과정에 관여하는 유전자를 얻기 위하여  $\alpha$ -factor를 수용하는 수용체 단백질을 coding하는 유전자 *STE2*가 결여된  $\alpha$ -형 효모 세포에 돌연변이를 유발시켜 *STE2* 결여를 억제할 수 있는 즉,  $\alpha$ -factor 수용체 단백질이 없는 데도 불구하고 mating을 할 수 있는  $\alpha$ -형 세포 돌연변이를 획득하였으며, 이 실험을 통하여 얻은 61개의 돌연변이를 complementation test와 linkage analysis를 통하여 분석한 결과, 돌연변이들은 3 group의 유전자 (*CDC70*, *CDC72*, *CDC73* 라고 명명하였음)에 속한다는 사실을 알았다.

## 재료 및 방법

### 균주 및 배지

사용된 효모 균주는 표 1에 나타나 있으며, 균주 3734-5-4로부터 획득한 돌연변이 주들은 개별적으로 기록하지 않았으나 모두 381G 계열 균주와 동

일한 계열이고 262a 및 262 $\alpha$ 는 mating type을 조사하는데 이용되었으며, 균주 y115, y36-2c, y44 및 y300은 세포주기의 Start 유전자와 본 연구에서 분리한 돌연변이 유전자와의 상보 시험 (complementation test)을 시행하는데 사용되었다.

일반적인 균주의 배양과 보관, mating type 시험, 영양 요구성 조사, sporulation 및 사포자 분석 (tetrad analysis) 등에 사용된 배지는 주로 Hartwell(1967)과 Sherman 등(1982)에 따랐다.

### 유전학적 분석

유성교배, sporulation, mating type 조사, meiotic segregant 획득, genotype 조사, 사포자 분석 및 random spore distribution 방법 등은 Mortimer and Hawthorne(1969) 및 Sherman 등(1982)의 방법에 따랐다.

### 돌연변이 유발

logarithmic 상태의 균주 3734-5-4의 세포  $2 \times 10^5$ 을 YEPD 평판배지에 도말한 후 UV를 LD50 만큼 ( $7750 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ ) 조사하여 3일 동안 실온( $23^\circ\text{C}$ )

Table 1. Yeast strains used in this study.

strain	genotype	source
381G $\alpha$ 6	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>abe6</i> , <i>his4</i> , <i>lys2</i> , <i>trp1</i> , <i>tyr1</i>	L. Hartwell
381Ga6	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>abe6</i> , <i>his4</i> , <i>lys2</i> , <i>trp1</i> , <i>tyr1</i>	L. Hartwell
381G $\alpha$ 2	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>abe2</i> , <i>his4</i> , <i>lys2</i> , <i>trp1</i> , <i>tyr1</i>	L. Hartwell
381Ga2	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>abe2</i> , <i>his4</i> , <i>lys2</i> , <i>trp1</i> , <i>tyr1</i>	L. Hartwell
3734-5-4	<i>ste2</i> : <i>LEU2</i> ; other markers as in 381Ga2	A. C. burkholder
262a	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>hom3</i> , <i>thr1</i>	S. I. Reed
262 $\alpha$	<i>MAT<math>\alpha</math></i> , <i>hom3</i> , <i>thr1</i>	S. I. Reed
y115	<i>cdc28-13</i> ; other markers as in 381G $\alpha$ 2	S. I. Reed
y36-2c	<i>cdc36-16</i> ; other markers as in 381G $\alpha$ 2	S. I. Reed
y44	<i>cdc37-1</i> ; other markers as in 381Ga6	S. I. Reed
y300	<i>cdc39-1</i> ; other markers as in 381Ga6	S. I. Reed

에서 배양하여 colony를 형성시킨 plate를 사전에 배양해 놓은 381G $\alpha$ 6 세포에 replica plating 한 후  $36^\circ\text{C}$ 에서 1일 동안 배양하여 mating을 유발시킨다. 이 plate를 adenine이 결핍된 합성배지(-Ade)에 replica plate하여 다시  $23^\circ\text{C}$ 에서 배양하면 mating이 일어난 diploid와 adenine revertant가 colony를 형성하는데 이들 중 diploid만 선택하여 YEPD 배지에 옮긴 후 sporulation을 유발시킨다. sporulation이 유발된 tetrad를 random spore distribution 방법으로 YEPD 평판배지에 도말하여  $23^\circ\text{C}$ 에서 배양한 후 2개의 YEPD 평판배지에 replica plate하여 하나는  $23^\circ\text{C}$ , 나머지 하나는  $39^\circ\text{C}$ 에서 배양한 후 상호비교하여 온도 감수성 돌연변이를 얻고 이들 세포의 형태를 관찰하여 세포주기 G1의 Start 단

계 돌연변이의 전형적인 형태인 shmoo형을 골랐다.

### 돌연변이 상호간의 상보성시험(complementation test)

유전자 간의 상보성시험(complementation test)은 서로 다른 돌연변이 사이에 유성교배를 시킨 후 이들의 온도감수성 여부를 조사함으로써 가능하게 되는데, 만약 동형접합자의 돌연변이가 *a/a*에서 표현형(본 실험의 경우 온도 감수성)이 나타나지 않는다면 통상적인 방법으로는 상보성 시험을 행할 수가 없으므로 tetrad analysis (Mortimer and Hawthorne 1969)를 통한 유전자 상호간의 linkage 여부를 확인하거나 protoplast fusion (Katz *et al.*, 1987; Rose *et al.*, 1986)을 하여 동형접합자의 ma-

ting type(이 경우  $a/a$  또는  $\alpha/\alpha$  diploid)에서 상보성 여부를 확인했다. 상보성시험을 시행하기 앞서서 알아야할 사실은 돌연변이가 wild type에 대해 recessive인가 혹은 dominant인가이다. 만약 dominant이면 상보성시험을 할 수가 없으므로 tetrad analysis를 통한 linkage 여부를 조사해야 하고, recessive 하다면 complementation test가 가능하다.

#### mating 효율의 정량적 분석

mating 효율은 Reid와 Hartwell(1977)방법에 따랐는데, 대략 다음과 같은 과정을 거쳤다. 각각의 mating type 세포  $2 \times 10^6$ 을 적정 온도에서 1 시간 배양한 후 섞은 다음  $0.45 \mu\text{m}$  milipore 여과지를 통하여 여과한뒤, 여과지를 YEPD 배지에 올려 놓고 적정온도에서 6 시간을 배양하여 mating을 유발시킨다. 여과지에 있는 세포를 5ml의 1 M sorbitol 용액에 씻어내어 적당히 희석한 후 diploid만 자랄 수 있는 선택배지에 접종하여 배양한다. 본 연구에서는 균주 381G $\alpha$ 를 야생형으로 측정하여 돌연변이들과 비교하였다.

### 결과 및 고찰

#### Pheromone 수용체의 결핍을 억제할 수 있는 돌연변이 분리

유전자 *STE2*는 *Saccharomyces cerevisiae*의  $\alpha$ 형 세포에서 발현되어  $\alpha$ 형 세포가 분비하는  $\alpha$ -pheromone을 수용하는 수용체 단백질을 coding한다 (Hagen and Sprague 1984; Hartig *et al.*, 1986). 따라서 *STE2* 유전자의 기능을 상실한 돌연변이는 mating pheromone의 signal을 전달할 수가 없기 때문에 mating과정을 수행할 수 없게 된다(Mackay and Manney 1974; Hartwell 1980).

본 연구에서는 *STE2*가 결여된 균주 3734-5-4에 자외선을 조사하여 mating을 수행할 수 있는 온도 감수성 돌연변이를 분리했는데 약 0.003%의 빈도로 획득하였다. 이들중 1/3인 61개의 돌연변이가 균주가 세포주기 G1의 Start 단계 유전자 돌연변이의 표현형인 shmoo형을 나타냈는데(그림 1), 이들을 실험대상으로 택했다. 그 이유는 효모의 mating 과정이 mating pheromone에 의하여 세포주기의 진행이 G1의 Start 단계에서 중단됨으로서 시작되기 때문에 (Hartwell 1974; Hartwell and Unger 1977), Start 유전자중에는 세포주기 조절 뿐만 아니라 mating과정에 필요한 signal을 전달해 주는 역할을 담당하는 유전자도 존재하리라는 가능성이 있었기 때문이었다. 실제로 Start 유전인 *CDC28* (Hartwell 1974), *CDC36*, *CDC37*, *CDC39*(Reed 1980)

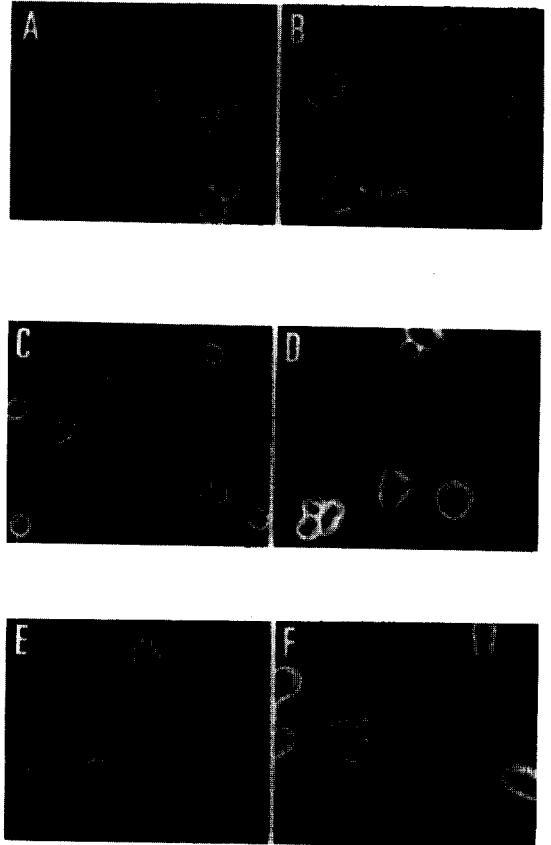


Fig. 1. Cellular morphology of haploid mutant cells at permissive and restrictive temperature. Exponentially growing cells of *cdc70-5*(A), *cdc72-1* (C) and *cdc73-1* (E) at  $23^\circ\text{C}$ , and 6 hour-incubated cells of *cdc70-5* after temperature shift to  $38^\circ\text{C}$  (B) and of *cdc72-1* (D) and *cdc73-1* (F) after shift to  $36^\circ\text{C}$ . Magnifications for all panels are equivalent.

중 *CDC36*과 *CDC39*이 mating 과정에 관여할 가능성이 보고된 바가 있다(Shuster 1982).

#### Complementation Group

상보성 시험과 사포자분석(tetrad analysis)에 의한 연관시험을 실시한 결과, 분리된 61개의 돌연변이는 3개 군으로 분류되었고, 이들 3개 군은 기존의 Start 유전자 돌연변이인 *cdc28-13*, *cdc36-16*, *cdc37-1* 및 *cdc39-1*과 상이한 유전자에서 돌연변이가 일어난 것으로 판명되어 3개 군은 *CDC70*, *CDC72* 및 *CDC73*으로 명명 하였다(표 2). 분리된 61개의 돌연변이 중 58개는 *CDC70*에, 2개는 *CDC72*에 나머지 하나는 *CDC73*에 속했다.

**Table 2.** Complementation analysis of receptor bypass mutants with other start genes

locus	<i>cdc70-8</i>	<i>cdc70-10</i>	<i>cdc72-1</i>	<i>cdc72-2</i>	<i>cdc73-1</i>	<i>cdc28-13</i>	<i>cdc36-16</i>	<i>cdc37-1</i>	<i>cdc39-1</i>
<i>cdc70-8</i>	-b	-b	+	+	+	+	+	+	+
<i>cdc70-10</i>	-b	b	+	+	+	+	+	+	+
<i>cdc70-1</i>									
<i>cdc70-5---</i>	b	b	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>cdc70-7<sup>a</sup></i>									
<i>cdc70-9</i>									
<i>cdc70-11---</i>									
<i>cdc70-6<sup>2a</sup></i>									
<i>cdc72-1</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>cdc72-2</i>	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<i>cdc73-1</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+

a) The mark '---' contains all serial mutation alleles, eg., *cdc70-5---cdc70-7* means *cdc70-5*, *cdc70-6*, and *cdc70-7*  
 b) The complementing ability of alleles to one another was determined by both traits of the temperature sensitivity for growth and the cell morphology in *MAT*-homozygous diploid context.  
 NT: not tested

**돌연변이의 세포 유전학적 특징**

*cdc70*, *cdc72c* *cdc73* 돌연변이의 haploid 세포의 형태적 특징은 그림1에서 보는 바와 같이 온도 감수성 돌연변이이며 높은 온도에서는 세포분열이 G1 단계에서 중지되고 모양이 shmoo형 이었다. *cdc72*와 *cdc73* 돌연변이의 온도감수성 정도가 *cdc70* 에 비하여 더욱 민감하여 39°C 이상의 온도에서는 세포가 shmoo형이라기 보다는 왜축된 형으로 보였다. 그러나 36°C에서는 shmoo형으로 형성 되었다. 세포가 shmoo로 된다는 사실은 세포분열은 중단되지만 세포생장은 지속되는 것을 암시한다(Reed 1980).

diploid 세포의 돌연변이 표현형은 haploid와는 다르게 나타나는데(표 3 참조), *a/a*형 세포에서는 *cdc70* 의 돌연변이 phenotype은 나타나지 않았고 *cdc72*와 *cdc73* 돌연변이는 온도 감수성이지만 shmoo 형은 아니었다. 효모에서 *a/a*형 세포에서는 발현 되지 않는 유전자들이 보고된 바 있는데 대부분 mating type 결정에 관여하거나 mating 과정에 관여하는 유전자로 알려지고 있다(Thorner 1981 ;

Herskowitz and Oshima 1981). 본 실험에서 분리된 *CDC70*, *CDC72*, *CDC73* 도 mating 에 관여하는 유전자이기때문에 *a/a*형 세포에서는 돌연변이 phenotype이 발현되지 않는 것으로 판단된다. 특히 *CDC70*의 경우는 돌연변이 phenotype이 *a/a*형에서는 전혀 발현되지 않는데 이 유전자는 *a1-a2* repressor (Strathern *et al.*, 1981) 에 의해 조절되는 것으로 판단할 수 있다. 이를 뒷받침하는 증거가 *a/a*형 세포에서는 돌연변이 phenotype이 발현 된다는 사실이며(표 3), *a/a*형 세포에서도 *a/a*형 세포와 마찬가지로 역시 돌연변이 phenotype이 나타났다.

한편, 돌연변이들의 우성여부 시험을 행한 결과 대부분 돌연변이 allele들이 semidorminant한데(표 3), 이는 돌연변이가 일어나서 mating에 필요한 signal이 지속적으로 전달되기 때문으로 풀이되며 신호 전달 과정에는 위의 유전자와 또 다른 여러가지 유전자가 관여 하리라는 가능성을 시사한다.

**Table 3.** Phenotypical properties of receptor bypass mutants.

locus	# alleles	temperature sensitivity <sup>a</sup> and cellular morphology <sup>b</sup> at 38°C			
		haploid	a mutant <i>a</i> mutant	a mutant <i>a</i> mutant	a mutant <i>a</i> wt
<i>cdc70</i>	58	-, shmoo	+, normal	-, shmoo	-, shmoo or ±, abnormal
<i>cdc72</i>	2	-, shmoo	-, abnormal	-, shmoo	± abnormal
<i>cdc73</i>	1	-, shmoo	-, abnormal	-,shmoo	±, abnormal

a) -, ± and + indicate no growth, weak growth, and normal growth, respectively  
 b) abnormal means misshapen and/or dead cells, but not the shmoo morphology

Table 4. Conjugation efficiency of receptor bypass mutants.

strain	genotype <sup>a)</sup>	% WT mating	
		room temp.	high temp.
3734-5-4	<i>MATa ste 2::LEU2</i>	0.000	0.000
A14-2	<i>MATa cdc 70-5</i>	70.8	76.5
A14-1	<i>MATa cdc 70-5 ste2::LEU2</i>	0.62	3.5
B24-2	<i>MATa cdc 72-1</i>	73.5	77.0
B24-6c	<i>MATa cdc 72-1 ste2::LEU2</i>	0.02	0.4
sb2-46-4	<i>MATa cdc 73-1</i>	76.2	80.3
sb2-46-9d	<i>MATa cdc 73-1 ste2::LEU2</i>	0.01	0.1

a) Genotype shows only *MAT*, *CDC*, and *STE2* loci.

### 수용체 결핍의 억제능

*cdc70*, *cdc72*, *cdc73* 돌연변이가 mating 과정에서 *STE2*가 결핍된 상태를 억제 하는 것은 수용체 단백질을 우회(bypass)하여 mating 과정을 완료한다고 해석할 수 있기 때문에 유전자 *CDC70*은 mating 과정에서 수용체 단백질(*STE2* 생성물)에 의한 signal을 받아 전달 한다고 풀이할 수 있다. 그런데 이 돌연변이가 어느 정도로 *STE2* 결핍을

억제하는지 알아보기 위하여 mating의 정량적 분석을 시도 하였다 (표 4). 이 결과 어느 돌연변이도 야생형의 mating빈도 만큼으로 회복되지 못함을 알았는데, 이는 *STE2*로부터 유래된 signal이 *CDC70*, *CDC72*, *CDC73*을 통하여 완전하게 전달 되지 못하고 그외 다른 전달 경로를 통할 것이라는 가능성을 제시한다.

### 적 요

효모의 mating과정의 기작을 연구하기 위하여,  $\alpha$  pheromone의 수용체를 coding하는 유전자인 *STE2*가 결여된 균주로 하여금 mating을 할 수 있게 하는 6개의 돌연변이를 획득하였다. 이들은 상보성시험과 연관시험 결과 3개 군의 유전자에 속했는데, 3개 군을 *CDC70*, *CDC72* 및 *CDC73* 이라고 명명하였다. 얻어진 돌연변이는 제한 온도에서는 세포 분열이 start 단계에서 정지되는 온도 감수성이며 *STE2* 유전자 결여를 억제하는 능력을 보여 주었는데, 이는 유전자 *CDC70*, *CDC72*, *CDC73* 의 생성물이 수용체로부터 전달되는 signal의 중간 전달 물질이라는 사실을 가리킨다.

### 사 사

본 연구는 1988년 문교부 학술 연구 조성비의 일부로 수행되었음.

### 참고문헌

- Baffi, R.A., P. Shenbagamuthi, K. Terrance, J. M. Becker, F. Naidar and P.N. Lipke 1984. Different structure-function relationships for  $\alpha$ -factor-induced morphogenesis and agglutination in *Saccharomyces cerevisiae*. J. bacteriol. **158**: 1152-1156.
- Betz, R., W. Duntze and T.R. Manney 1978. Mating factor mediated sexual agglutination in *Saccharomyces cerevisiae*. FEBS Lett. **4**: 107-110.
- Bücking-Throm, W. Duntze, L.H. Hartwell and T. R. Manney 1973. Reversible arrest of haploid yeast cells at the initiation of DNA synthesis by diffusible sex factor. Exp. Cell Res. **76**: 99-100.
- Hagen, D.C., G. McCaffrey, and G.F. Sprague, Jr. 1986. Evidence the yeast *STE3* gene encodes a receptor for the peptide pheromone  $\alpha$ -factor : Gene sequence and implications for the structure of the presumed receptor. Proc. Natl. Acad. Scil USA **83**: 1418-1422.
- Hagen, D.C. and G.F. Sprague, Jr. 1984. Induction of the yeast  $\alpha$ -specific *STE3* gene by the peptide pheromone  $\alpha$ -factor. J. Mol. Biol. **178**: 835-852.
- Hartig, A., J. Holly, G. Saari and V.L. Mackay 1986. Multiple regulation of *STE2*: a mating type-specific gene of *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Cell. Biol. **6**: 2106-2114.
- Hartwell, L.H. 1967. Macromolecule synthesis in temperature sensitive mutants of yeast. J. Bacteriol. **93**: 1662-1670.
- Hartwell, L.H. 1974. *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. Bacteriol. Rev. **38**: 164-198.
- Hartwell, L.H. 1980. Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* unresponsive to cell division control by polypeptide mating hormone. J. Cell Biol **85**: 811-822.
- Hartwell, L.H., J. Culotti, J.R. Pringle, and B.J. Reid 1974. Genetic control of the cell division cycle in yeast. Science **183**: 46-51.
- Hartwell, L.H. and M.W. Unger 1977. Unequal division in *Saccharomyces cerevisiae* and its implications for the control of cell division. J. Cell Biol. **75**: 422-435.
- Herskowitz, I. and Y. Oshima 1981. Control of cell

- type in *Saccharomyces cerevisiae*: Mating type and mating-type interconversion, pp. 181-209. In J.N. Strathern, E.W. Jones, and J.R. Broach(ed.), Molecular biology of the yeast *Saccharomyces*: Metabolism and gene expression. Cold Spring Harbor, New York.
13. **Katz, M.E., J. Ferguson and S.I. Reed** 1987. Temperature sensitive lethal pseudo-revertants of *STE* mutations in *S. cerevisiae*. **115**: 627-636.
  14. **Levi, J.D.** 1956. Mating reaction in yeast. *Nature* **177**: 753-754.
  15. **Mackay, V.L. and T.R. Manney** 1974. Mutations affecting sexual conjugation and related process in *Saccharomyces cerevisiae*. I. Isolation and phenotypic characterization of nonmating mutants. *Genetics* **76**: 255-271.
  16. **Mortimer, R.K. and D.C. Hawthorne.** 1969. Yeast genetics. In *The Yeasts*. Ed. by A.H. Rose and J.S. Harrison. Vol. 1. Biology of Yeasts. pp. 385-460. Academic Press.
  17. **Nakayama, N., A. Miyajima and K. Arai** 1985. Nucleotide Sequences *STE2* and *STE3*, cell type-specific sterile genes from *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO Journal* **4**: 2643-2123.
  18. **Reed, S.I.** 1980. The selection of amber mutations in genes required for completion of start, the controlling event of the cell division of *S. cerevisiae*. *Genetics* **95**: 579-588.
  19. **Reid, B.J. and L.H. Hartwell** 1977. Regulation of mating in the cell cycle of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Cell Biol.* **75**: 355-365.
  20. **Rose, M.D., B.R. Price and G.R. Fink** 1986. *Saccharomyces cerevisiae* nuclear fusion requires prior activation by *alpha* factor. *Mol. Cell. Biol.* **6**: 3490-3497.
  21. **Sherman, F., G.R. Fink and J.B. Hicks** 1982. *Methods in Yeast Genetics*(Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Lab.).
  22. **Shuster, J.R.** 1982. Mating-defective *ste* mutations are suppressed by cell division cycle start mutations in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* **2**: 1052-1063.
  23. **Strathern, J., J. Hicks and I. Herskowitz** 1981. Control of cell type in yeast by mating type locus. The  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  hypothesis. *J. Mol. Biol.* **147**: 357-372.
  24. **Terrance, K. and P.N. Lipke** 1981. Sexual agglutination in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.* **148**: 889-896.
  25. **Thorner, J.** 1981. Pheromone regulation of development in *Saccharomyces cerevisiae*. pp. 143-180. In J. N. Strathern, E.W. Jones, and J.R. Broach(ed.), *Molecular biology of the yeast Saccharomyces*: Life cycle and inheritance. Cold Spring Harbor, New York.

(Received Aug 21, 1989)