

고농도 CO₂ 노출에 의한 *Aspergillus nidulans*의 유성생식 촉진효과

한갑훈* · 양영석 · 김종화

우석대학교 보건복지대학 제약공학과

Effect of High CO₂ Concentration on Activation of Sexual Development in *Aspergillus nidulans*

Kap-Hoon Han*, Yeong-Seok Yang and Jong-Hwa Kim

Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University, Wanju 565-701, Korea

ABSTRACT : Fungal development is largely affected by many environmental factors. In a model filamentous fungus *Aspergillus nidulans*, asexual development is promoted by exposure of light, presence of salt and non-fermentable sugars. In other hand, sexual development is largely induced by absence of light, fermentable sugars and hypoxic condition. Also, some important genes including *veA* and *nsdD* play positive roles in activating sexual development. Here, we reported that the effect of high concentration of CO₂ on developmental decision in *A. nidulans*. When wild-type *veA*⁺ strain was cultured in normal condition, sexual and asexual development occurred in balanced manner. However, high concentration of CO₂ (~5%) strongly activated sexual development and inhibited asexual development. Furthermore, this CO₂ effect was controlled by the *veA* or *nsdD* gene. High CO₂ culture of *veA*⁻ or *nsdD*⁻ mutant didn't activate sexual development, suggesting that the activation of sexual development induced by high CO₂ cannot overcome the genetic requirement of sexual development such as *veA* or *nsdD*. Since 5% CO₂ is an important condition for human pathogenic fungi for surviving and adapting in human body, this developmental pattern of *A. nidulans* affected by CO₂ concentration may provide interesting clues for comparative study with human fungal pathogens including *Aspergillus fumigatus*.

KEYWORDS : *Aspergillus nidulans*, CO₂, *nsdD*, *veA*, Sexual development

사성성 진균인 *Aspergillus nidulans*는 토양미생물이며, 유성 및 무성생식기관을 모두 가지고 있는 homothallic fungus이다. 간단한 합성배지에서도 배양이 용이하고 유성, 무성생식뿐만 아니라 준유성생식 생활사를 가지고 있어 다양한 유전학적 분석이 가능하므로 유전학적 모델 시스

템으로 오랫동안 사용되어 왔다(Pontecorvo *et al.*, 1953). *A. nidulans*의 분화는 외부환경 조건 및 내부 유전자들의 조절에 의하여 매우 정교하게 조절되어지는 것으로 알려져 있으며 1980년대 이후 분화를 조절하는 다양한 유전자들이 분리되고 분석되어져 왔다(Adams *et al.*, 1998; Han, 2009; Yu, 2010).

*A. nidulans*의 무성분화는 *BrlA*라는 주된 조절인자에 의하여 제어되는 것으로 알려져 있으며(Adams *et al.*, 1988), *fluG*, *flbA-E*, *sfgA* 유전자들이 *brlA* 유전자의 발현을 직간접적으로 조절하는 것이 보고되어져 왔다(Lee and Adams, 1994; Yu *et al.*, 1996; Seo *et al.*, 2003; Etxebeste *et al.*, 2008; Kwon *et al.*, 2010a; Kwon *et al.*, 2010b). *brlA* 유전자는 발아 후 약 12시간 후에 유전자가 발현되게 되고 일단 *brlA*가 발현되면 *abaA*, *wetA* 등과 같은 유전자가 *brlA* 유전자의 영향을 받아 무성분화와 무성포자형성을 완성하게 된다(Marshall and Timberlake, 1991; Andrianopoulos and Timberlake, 1994). 무성분화과정은 균사가 성장하는

Kor. J. Mycol. 2013 June, 41(3): 192-196
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.3.192>
 pISSN 0253-651X
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: khhan@woosuk.ac.kr

Received June 1, 2013
 Revised August 18, 2013
 Accepted September 13, 2013

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

영양성장과정이 일정 시기 동안 일어난 후 성장이 멈추면서 일어나게 되며 이러한 균사의 영양성장 신호의 조절은 *fadA*라는 유전자가 중요한 역할을 수행한다. *fadA*는 heterotrimeric G-단백질 복합체의 G α subunit을 암호화하고 있으며 이 G-단백질이 활성화되면 영양성장이 촉진되며 분화는 일어나지 않는다(Hicks *et al.*, 1997). 따라서 적절한 시기에 분화과정이 개시되기 위해서는 이 G-단백질의 신호를 억제하는 기작이 필요하며, *flbA* 유전자가 암호화하고 있는 RGS 단백질(Regulator of G-protein Signaling)이 그 역할을 수행한다(Yu *et al.*, 1996). 활성화된 G α 단백질에서 GTP가 GDP로 분해되어야 G-단백질은 비활성화가 되며, FlbA 단백질이 FadA 단백질에 붙어있는 GTP의 가수분해를 촉진하게 하여 영양성장은 억제하고 분화과정을 개시하는 것으로 알려져 있다(Lafon *et al.*, 2006; Yu, 2006). 이러한 무성분화과정은 유전적으로 매우 긴밀하고 정확하게 조절되어지며 일부 외부환경의 영향을 받기는 하나, 초기에 분화능력을 획득하면 무성포자형성 기작이 활성화된다 (Park and Yu, 2012).

한편으로, homothallic인 *A. nidulans*는 mating type이 없고 유전적인 조절과 환경적인 영향에 따라 스스로 유성포자를 만들 수 있으며, 최근 유성분화에 필요한 많은 유전자들이 보고되어졌다(Han, 2009). 유성분화는 무성분화와 달리 자실체(fruiting body)를 형성하여 그 내부에서 meiosis를 통한 포자형성이 일어나므로 이를 위해서 많은 유전자들이 관여할 것으로 추측되나 아직 유성분화를 직접적으로 조절하는 것으로 알려진 유전자는 많지 않다. 현재까지 알려진 유성분화 조절 유전자들 중 대표적인 유전자 중 하나는 *nsdD* 유전자로 이 유전자는 GATA type zinc finger를 가진 전사인자를 암호화하고 있으며 이 유전자가 제거되거나 돌연변이가 생겼을 경우 유성분화를 하지 못하게 되고 과다발현되었을 경우 유성분화를 촉진하게 하여 유성분화의 양성조절인자(positive regulator)로 알려져 있다(Han *et al.*, 2001). 이 외에 C₂H₂ zinc finger transcription factor를 암호화하고 있는 유성분화 촉진 유전자인 *nsdC*와 *nosA*를 비롯하여(Kim *et al.*, 2009; Vienken and Fischer, 2006) 유성분화의 음성조절인자인 *rosA* 유전자가 보고되었으며(Vienken *et al.*, 2005), APSES 단백질을 암호화하는 *stuA* 유전자, ROS(reactive oxygen species) 생성에 관여하는 *noxA* 유전자들도 유성분화에 많은 영향을 미치는 것으로 알려졌다(Miller *et al.*, 1992; Lara-Ortiz *et al.*, 2003). 뿐만 아니라 Han 등(2003)에 따르면 *A. nidulans*의 유성분화는 다양한 외부 환경요인에 따라 영향을 받는 것으로 보고되었는데 다양한 염 스트레스, 빛의 존재, 초산과 같은 non-fermentable carbon source 등은 유성분화를 억제하는 반면, 높은 농도의 포도당, 젓당과 같은 발효성 당을 비롯하여 저산소조건에서는 유성분화를 촉진하는 것이 알려졌다 (Han *et al.*, 2003).

이렇듯 *A. nidulans*의 분화과정은 다양한 유전자들의 조

절기작과 외부환경요인에 의하여 결정되며, 야생형의 경우에는 무성분화와 유성분화가 적절한 균형을 맞추어 진행하게 된다. 이러한 분화과정의 균형은 *veA* 유전자의 영향이 많이 받게 된다(Kim *et al.*, 2002). *A. nidulans* FGSC A24 균주는 야생형 *veA* 유전자가 아닌 *veA1* 돌연변이를 가지고 있어 야생형 균주인 FGSC A4 균주에 비하여 유성분화가 현저히 줄어들고 빛을 쬐어주지 않아도 무성분화가 촉진되었기 때문에 기존에 무성분화 등을 연구하기 위한 유전학적 균주로 주로 사용되어져 왔다(Kafer, 1977). 최근의 연구결과에 따르면 *VeA* 단백질은 velvet domain이라는 보존된 부위를 가지고 있고 외부의 신호전달에 따라 핵으로 이동하며 핵에서 여러 종류의 파트너 단백질들과 결합하여 빛에 의한 분화의 결정이나 유성분화, 무성분화, 이차대사산물의 생성을 조절하는 것이 밝혀졌다(Bayram *et al.*, 2008).

Han 등(2003)은 저산소 조건이 *A. nidulans*의 분화방향을 무성생식은 억제하고 유성생식을 촉진하는 것으로 보고하였다. 저산소 조건에서의 진균의 성장에 관한 연구는 *Aspergillus fumigatus*와 같은 일부 Aspergilli가 면역억제환자들에게 aspergillosis라는 진균증을 유발하는 것과 깊은 관련이 있다. 이러한 병원성 진균의 숙주인 사람의 신체 내부조건이 산소는 희박한 저산소 조건이면서 이산화탄소 농도가 높은 고 CO₂ 조건이기 때문에 인체 내에서의 진균의 적응이 병원성과 밀접한 것으로 보이기 때문이다. 이와 관련하여 진균이 높은 CO₂ 농도(~5%)에서 어떤 반응을 보이며 어떠한 기작으로 이러한 환경에 적응할 수 있는지에 대한 연구가 수행되어 왔으며, *Cryptococcus neoformans*와 같은 진균성 뇌수막염 유발균주 및 *A. fumigatus*, *A. nidulans*와 같은 진균에 있어 carbonic anhydrase(CA)라는 효소를 통하여 이산화탄소를 감지하는 것이 밝혀졌다(Bahn *et al.*, 2005; Han *et al.*, 2010). CA는 이산화탄소를 중탄산염으로 전환시켜 이온화가 용이하게 만들어주며 이 기작은 세포내의 pH유지 등과 같은 항상성 유지에 매우 중요한 기능을 수행한다. 따라서 진균에서 이 유전자가 망가지게 되면 공기중의 CO₂가 약 5% 정도의 높은 농도로 존재할 경우는 생존에 문제가 없지만 0.033% 정도인 일반 공기 중의 이산화탄소 농도에서는 진균이 자라지 못하는 CO₂ 의존성 치사 표현형을 나타낸다. *A. nidulans*의 경우 2개의 CA가 있으며 그중에 *canB*로 명명된 유전자가 제거되면 이러한 CO₂ 의존형 형질을 보이게 된다(Han *et al.*, 2010).

본 연구진은 *A. nidulans*의 CA 기작을 연구하던 중 5% CO₂ 농도 조건에서 특이적으로 유성분화가 진행되는 것을 일부 관찰한 바 있다(Han *et al.*, 2010). 본 연구에서는 *A. nidulans* 야생형 균주인 FGSC A4가 5% CO₂ 농도 조건에서 특이적으로 유성분화를 진행하는 것을 관찰하였으며, 정상적인 CO₂ 농도(0.033%) 및 고농도의 CO₂(5%)에서 보여주는 분화 양상이 유성분화 양성조절 유전자인 *veA*나

*nsdD*가 정상적이지만 않은 돌연변이 균주에서도 동일하게 유성분화가 촉진되는지 또는 이러한 유전자의 영향을 받아 고농도 CO₂ 조건에서도 유성분화가 진행되지 않는지에 대한 여부를 조사하고자 하였다.

본 연구에는 야생형 균주로 Fungal Genetics Stock Center에서 제공한 FGSC A4 (*veA*⁺)를 사용하였다. 또한 비교분석을 위한 돌연변이 균주로는 *veA1* 돌연변이를 가지고 있는 FGSC A26(*biA1*, *veA1*)과 *veA* 유전자 제거 돌연변이균주인 $\Delta veA28$ (*pabaA1*; *argB2*; *pyroA4*; *chaA1* $\Delta veA::argB$) (Kim *et al.*, 2009), *nsdD* 유전자 제거 돌연변이균주인 KOD2 ($\Delta argB::trpC$; $\Delta nsdD::argB$; *choA1*) (Kim *et al.*, 2009), 그리고 배양과정에서 CO₂ 농도를 확인하기 위하여 CA 유전자 *canB* 제거 돌연변이 균주인 $\Delta canB$ (*pyrG89*; *pyroA4*, $\Delta nkuA::argB$; *riboB2*; $\Delta canB::AfpyrG$) (Han *et al.*, 2010) 등을 사용하였다. 완전배지(CM) 및 균주의 배양조건은 Han 등(2010)의 조건에 따라 사용하였고 고농도 CO₂ 배양은 GasPack EZ CO₂ Pouch system(BD, USA)을 사용하였으며, 모든 균주들은 37°C에서 배양하였다.

실험 결과, Fig. 1A에서 보는 바와 같이 야생형 균주인 FGSC A4를 일반적인 배양조건 (~0.033% CO₂) 과 약 5%의 고농도 CO₂ 조건에서 배양하였을 때 분화양상이 뚜렷하게 바뀌며 고농도 CO₂ 조건은 저산소 조건과 유사하게 유성분화를 촉진하고 무성분화를 억제하는 것을 알 수 있다(Fig. 1A, Table 1). 균주 배양시의 CO₂ 농도의 확인을 위하여 $\Delta canB$ 균주를 같이 접종하였는 바, 정상 농도의 CO₂ 조건에서는 $\Delta canB$ 균주가 자라지 못하고 5% CO₂ 조건에서만 $\Delta canB$ 균주가 성장을 하므로 유성분화의 유도가 5% CO₂에서만 일어나는 것을 쉽게 확인할 수 있었다. 또한 이러한 고농도 CO₂에 의한 유성분화 촉진은 유성분화 양성 조절 유전자인 *veA* 나 *nsdD*의 활성을 통하여 일어나는데, Fig. 1B와 같이 고농도 CO₂ 조건이 주어진다 할지라도 *veA*의 기능이 정상적이거나 제거된 경우(*veA1* 혹은 ΔveA) 및 *nsdD* 유전자가 제거된 경우($\Delta nsdD$)에는 유성분화로의 촉진이 일어나지 않는 것을 알 수 있다 (Fig. 1B, Table 1).

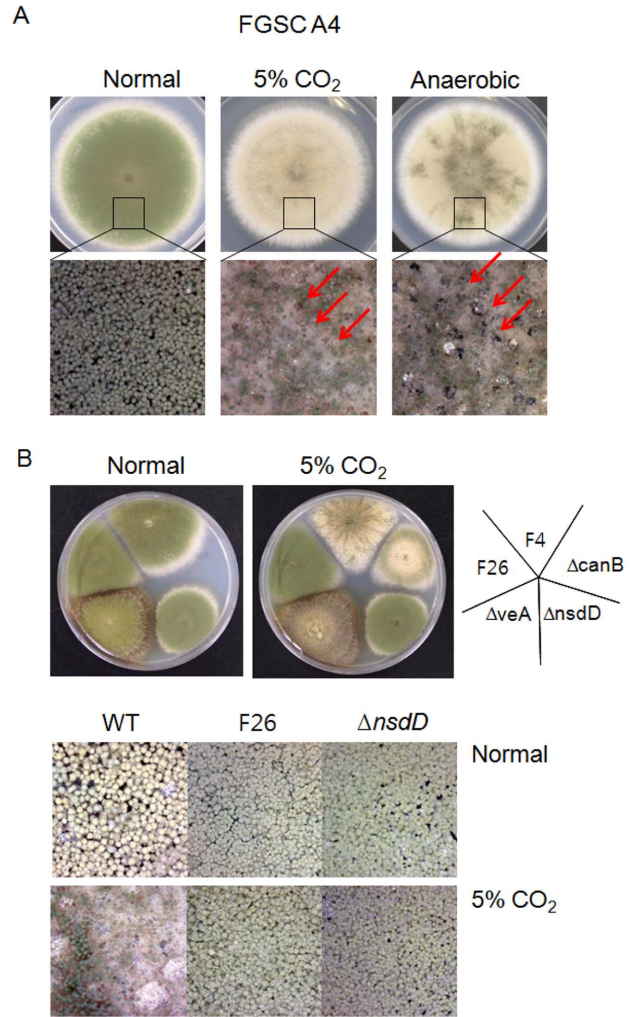


Fig. 1. Effect of CO₂ concentration on sexual development of *A. nidulans* wild type and sexual developmental mutants. A. Plate and microscopic pictures of wild type strain FGSC A4 cultured in normal, 5% CO₂ and hypoxic conditions. Arrows indicate cleistothecia, the fruiting bodies of *A. nidulans*. B. Plate pictures wild-type, *veA* and *nsdD* mutants in normal and 5% CO₂ conditions. $\Delta canB$ strain was innoculated as an indicator of high CO₂ condition. All strains were cultured in CM at 37°C for 4 days.

Table 1. Effect of CO₂ on *A. nidulans* development in various genetic backgrounds

Strain	Genotype	Normal		High (5%) CO ₂		Strain source
		Conidia ^a	Cleistothecia ^b	Conidia	Cleistothecia	
FGSC A4	<i>veA</i> ⁺	+	++	-	+++	FGSC ^c
FGSC A26	<i>veA1</i>	+++	+	+++	+	FGSC
$\Delta veA28$	ΔveA	+++	-	++	-	Kim <i>et al.</i> , 2009
KOD2	$\Delta nsdD$, <i>veA</i> ⁺	+++	-	+++	-	Kim <i>et al.</i> , 2009
$\Delta canB$	$\Delta canB$, <i>veA</i> ⁺	No growth		-	+++	Han <i>et al.</i> , 2010

^aThe number of conidia was examined by scoring with a haemocytometer obtained from a sold plate with cork borer. The numbers of conidia per ml from at least 3 agar blocks were averaged. -, <10⁴; +, 10⁴-10⁵; ++, 10⁵-5x10⁶; +++, >5x10⁶.

^bAverage number of mature cleistothecia per cm² of 5 different areas of a plate. -, <1; +, 1-10; ++, 10-50; +++, 50-100.

^cFungal Genetics Stock Center (<http://www.fgsc.net>)

이러한 CO₂ 농도에 따른 분화양상이 어떠한 기작을 통하여 일어나는지에 대하여는 아직까지 밝혀진 바가 없다. Zonneveld(1977)에 따르면 CO₂를 제거하는 혐기성분을 포함하여 배양할 경우에는 유성분화가 억제되며 이는 포도당 대사와 관련이 있을 것으로 추정하였다. 포도당은 주된 탄소원이자 에너지원으로 C3 중간체를 통하여 대사가 되므로 포도당이 고갈될 경우 세포는 C2 공급원에 매우 의존적이게 되며 이 부분에 있어서 CO₂는 pyruvate carboxylase를 통한 anaplerotic carbon fixation에 중요한 역할을 하기 때문에 CO₂가 부족할 경우 자낭각의 형성이 저해되는 것으로 보았다(Zonneveld, 1977). 그러나 CO₂가 풍부하거나 고농도일 경우 유성분화로만 분화가 진행되는 현상은 아직 다른 진균에서는 보고되지 않은 *A. nidulans*의 생리적인 특징으로 보인다. 이러한 현상은 저산소 조건에서 유성생식으로만 유도되는 기작과 매우 유사해 보이지만 세포내의 메카니즘이 서로 유사한지에 대해서는 밝혀지지 않았다. 고농도의 CO₂ 조건은 인간 병원성 진균에 있어서는 인체내에서 병원균이 환경에 적응하고 생존하는데 중요한 환경요인중에 하나이므로 CA를 통한 CO₂ 감지 및 조절등에 대하여 병원성 진균에서 연구가 활발히 진행되고 있다 (Bahn and Mhlschlegel, 2006; Kim *et al.*, 2010; Elleuche and Pggeler, 2010). 그러므로 *A. nidulans*에서의 CO₂ 농도 변화에 따른 분화 결정의 변화는 기초적인 진균 생리 및 분화과정 뿐만 아니라 인간 병원균의 인체내 적응기작에 있어서도 흥미로운 정보를 제공할 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 기존에 사용하고 있던 유성생식 유도조건인 저산소조건 뿐만 아니라 고 CO₂ 조건을 활용하여도 동일한 분화패턴을 얻을 수 있으므로 유성분화 배양 실험에 있어서도 좋은 유도조건을 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

진균의 분화과정은 다양한 환경요인에 의하여 영향을 받는다. 모델 사상성 진균인 *Aspergillus nidulans*의 경우 빛이 존재하거나 높은 염 농도, 비 발효성 당에 의하여 무성분화가 촉진되며 반대로 빛이 없거나 발효성 당이 풍부할 때, 그리고 저산소 조건일 경우 유성분화를 촉진하게 된다. 또한 *veA*나 *nsdD*와 같은 유성생식 양성조절유전자들도 유성분화를 유도하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 *A. nidulans*에서 CO₂의 농도와 분화패턴의 관계를 알아보고자 하였다. 정상적인 조건에서 *veA*⁺ 야생형 균주는 유성생식과 무성생식이 균형을 이룬 상태의 분화를 진행하게 된다. 그러나 5% 정도의 높은 CO₂ 조건에서 배양하였을 경우 무성분화는 일어나지 않고 유성생식으로만 분화과정이 일어나게 된다. 뿐만 아니라 이러한 분화 양상은 *veA*와 *nsdD*에 의존적으로 일어나게 된다. 고농도의 CO₂ 조건이라 할지라도 *veA* 혹은 *nsdD* 돌연변이 균주에서는 유성분화는 일어나지 않고 무성분화만이 일어나는 것을 관찰할 수 있었는

데, 이는 CO₂ 농도가 높아져도 유성생식에 있어서 이들 유전자의 기능이 필요하다는 것을 시사한다. 또한 5% CO₂ 조건은 인간 병원성 진균에게 있어서 사람의 신체 내에 살아가기 위하여 적응하여야 하는 대기 조건으로, 이러한 *A. nidulans*의 CO₂ 농도에 따른 분화양상의 변화는 *A. fumigatus*와 같은 인간 병원균의 생리, 분화적 변화에 대한 비교분석에 사용될 수 있다.

감사의 글

이 논문은 우석대학교 및 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2012R1A1A4A01012864).

참고문헌

- Adams, T. H., Boylan, M. T. and Timberlake, W. E. 1988. *brlA* is necessary and sufficient to direct conidiophore development in *Aspergillus nidulans*. *Cell* 54:353-362.
- Adams, T. H., Wieser, J. K. and Yu, J. H. 1998. Asexual sporulation in *Aspergillus nidulans*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:35-54.
- Andrianopoulos, A. and Timberlake, W. E. 1994. The *Aspergillus nidulans abaA* gene encodes a transcriptional activator that acts as a genetic switch to control development. *Mol. Cell. Biol.* 14:2503-2515.
- Bahn, Y. S., Cox, G. M., Perfect, J. R. and Heitman, J. 2005. Carbonic anhydrase and CO₂ sensing during *Cryptococcus neoformans* growth, differentiation, and virulence. *Curr. Biol.* 15:2013-2020.
- Bahn, Y. S. and Mhlschlegel, F. A. 2006. CO₂ sensing in fungi and beyond. *Curr. Opin. Microbiol.* 9:572-578.
- Bayram, O., Krappmann, S., Ni, M., Bok, J. W., Helmstaedt, K., Valerius, O., Braus-Stromeier, S., Kwon, N. J., Keller, N. P., Yu, J. H. and Braus, G. H. 2008. VelB/VeA/LaeA complex coordinates light signal with fungal development and secondary metabolism. *Science* 320:1504-1506.
- Elleuche, S. and Pggeler, S. 2010. Carbonic anhydrases in fungi. *Microbiology* 156:23-29.
- Etchebeste, O., Ni, M., Garzia, A., Kwon, N. J., Fischer, R., Yu, J. H., Espeso, E. A. and Ugalde, U. 2008. Basic-zipper-type transcription factor FlbB controls asexual development in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryot. Cell.* 7:38-48.
- Han, K. H. 2009. Molecular genetics of *Emerella nidulans* sexual development. *Mycobiology* 37:171-182.
- Han, K. H., Chun, Y. H., Figueiredo B. C. P., Soriani, F. M., Savoldi, M., Almeida, A., Rodrigues, F., Cairns, C. T., Bignell, E., Tobal, J. M., Goldman, M. H., Kim, J. H., Bahn, Y. S., Goldman, G. H. and Ferreira, M. E. 2010. The conserved and divergent roles of carbonic anhydrases in the filamentous fungi *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 75:1372-1388.
- Han, K. H., Han, K. Y., Yu, J. H., Chae, K. S., Jahng, K. Y. and Han, D. M. 2001. The *nsdD* gene encodes a putative GATA-type transcription factor necessary for sexual development of *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 41:299-309.

- Han, K. H., Lee, D. B., Kim, J. H., Kim, M. S., Han, K. Y., Kim, W. S., Park, Y. S., Kim, H. B. and Han, D. M. 2003. Environmental factors affecting development of *Aspergillus nidulans*. *J. Microbiol.* 41:34-40.
- Hicks, J. K., Yu, J. H., Keller, N. P. and Adams, T. H. 1997. *Aspergillus* sporulation and mycotoxin production both require inactivation of the FadA G alpha protein-dependent signaling pathway. *EMBO J.* 16:4916-4923.
- Kafer, E. 1977. Meiotic and mitotic recombination in *Aspergillus* and its chromosomal aberrations. *Adv. Genet.* 19:33-131.
- Kim, H., Han, K., Kim, K., Han, D., Jahng, K. and Chae, K. 2002. The *veA* gene activates sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genet. Biol.* 37:72-80.
- Kim, H. R., Chae, K. S., Han, K. H. and Han, D. M. 2009. The *nsdC* gene encoding a putative C2H2-type transcription factor is a key activator of sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Genetics.* 182:771-783.
- Kim, M. S., Ko, Y. J., Maeng, S., Floyd, A., Heitman, J. and Bahn, Y. S. 2010. Comparative transcriptome analysis of the CO₂ sensing pathway via differential expression of carbonic anhydrase in *Cryptococcus neoformans*. *Genetics.* 185:1207-1219.
- Kwon, N. J., Garzia, A., Espeso, E. A., Ugalde, U. and Yu, J. H. 2010a. FlbC is a putative nuclear C2H2 transcription factor regulating development in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 77:1203-1219.
- Kwon, N. J., Shin, K. S. and Yu, J. H. 2010b. Characterization of the developmental regulator FlbE in *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus nidulans*. *Fungal Genet. Biol.* 47:981-993.
- Lafon, A., Han, K. H., Seo, J. A., Yu, J. H. and d'Enfert, C. 2006. G-protein and cAMP-mediated signaling in aspergilli: a genomic perspective. *Fungal Genet. Biol.* 43:490-502.
- Lara-Ortiz, T., Riveros-Rosas, H. and Aguirre, J. 2003. Reactive oxygen species generated by microbial NADPH oxidase NoxA regulate sexual development in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 50:1241-1255.
- Lee, B. N. and Adams, T. H. 1994. The *Aspergillus nidulans fluG* gene is required for production of an extracellular developmental signal and is related to prokaryotic glutamine synthetase I. *Genes Dev.* 8:641-651.
- Marshall, M. A. and Timberlake, W. E. 1991. *Aspergillus nidulans wetA* activates spore-specific gene expression. *Mol. Cell. Biol.* 11:55-62.
- Miller, K. Y., Wu, J. and Miller, B. L. 1992. StuA is required for cell pattern formation in *Aspergillus*. *Genes Dev.* 6:1770-1782.
- Park, H. S. and Yu, J. H. 2012. Genetic control of asexual sporulation in filamentous fungi. *Curr. Opin. Microbiol.* 15: 669-677.
- Pontecorvo, G., Roper, J. A., Hemmons, L. M., Macdonald, K. P. and Bufton A. W. J. 1953. The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Adv. Genet.* 5:141-238.
- Seo, J. A., Guan, Y. and Yu, J. H. 2003. Suppressor mutations bypass the requirement of *fluG* for asexual sporulation and sterigmatocystin production in *Aspergillus nidulans*. *Genetics* 165:1083-1093.
- Vienken, K. and Fischer, R. 2006. The Zn(II)₂Cys₆ putative transcription factor NosA controls fruiting body formation in *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 61:544-554.
- Vienken, K., Scherer, M. and Fischer, R. 2005. The Zn(II)₂Cys₆ putative *Aspergillus nidulans* transcription factor repressor of sexual development inhibits sexual development under low-carbon conditions and in submerged culture. *Genetics* 169: 619-630.
- Yu, J. H. 2006. Heterotrimeric G protein signaling and RGSs in *Aspergillus nidulans*. *J. Microbiol.* 44:145-154.
- Yu, J. H. 2010. Regulation of development in *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology.* 38:229-237.
- Yu, J. H., Wieser, J. and Adams, T. H. 1996. The *Aspergillus* FlbA RGS domain protein antagonizes G protein signaling to block proliferation and allow development. *EMBO J.* 15:5184-5190.
- Zonneveld, B. J. M. 1977. Biochemistry and ultrastructure of sexual development of *Aspergillus*, pp. 59-80 In *Genetics and Physiology of Aspergillus*, edited by Smith, J. E. and Pateman, J. A. Academic Press, London.