

INFLUÊNCIA DO COBRE NO METABOLISMO DE FUNGOS

INFLUENCE OF COPPER IN FUNGAL METABOLISM

IGOR GODINHO PORTIS^{1*}, LUCAS NOJOSA OLIVEIRA², DANIELLE SILVA ARAÚJO³, PATRÍCIA DE SOUSA LIMA⁴, GUILHERME PETITO⁵

1. Faculdades FAN-Padrão, Departamento de Saúde, Goiânia, Goiás, Brasil. 2. Departamento de Biomedicina da Faculdade Estácio de Sá de Goiás-FESGO, Goiânia, Goiás, Brasil. 3. FacUnicamps, Goiânia, Goiás, Brasil. 4. Universidade Estadual de Goiás, Campus Itapuranga, Goiás, Brasil. 5. Centro Universitário Uni-Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil.

* Av. Anhanguera, S/N - Rodoviário, Goiânia, Goiás, Brasil, CEP: 74430-030. igorportis@gmail.com

Recebido em 12/10/2020. Aceito para publicação em 20/10/2020

RESUMO

Sabe-se que alguns metais são essenciais para a manutenção da vida dos microrganismos, necessários para processos metabólicos tais como, obtenção de energia, produção de biomoléculas, como as proteínas, reposta ao estresse oxidativo, bem como desempenham um papel fundamental na virulência de bactérias e fungos. Porém, esses metais necessitam estar nas concentrações corretas para o bom funcionamento do organismo. Também é conhecido que o sistema imunológico humano utiliza alguns metais para a controle ou eliminação desses invasores. Foi demonstrado em diversos estudos que os fungos, especialmente os patogênicos humano, possuem diversos mecanismos para a homeostase desses metais, como a captação dos metais em casos de privação, ou a expulsão desses metais em caso de excesso. A ausência ou a grande quantidade dos metais, ambas as situações podem causar condições de estresse para os fungos. Os estudos mostram uma grande relevância dos metais ferro, zinco e cobre para todas as atividades desses fungos, assim como, esses fungos travam uma batalha com nosso sistema imunológico, envolvendo esses metais. Neste trabalho será abordado a influência nos níveis de cobre na biologia e patogenicidade dos principais fungos que causam doenças em humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Metal; Homeostase; Detoxificação; Estresse, Melanina.

ABSTRACT

It is known that some metals are essential for maintaining the life of microorganisms, necessary for metabolic processes such as obtaining energy, producing biomolecules, such as proteins, which respond to oxidative stress, as well as playing a fundamental role in the virulence of bacteria and fungi. However, these metals need to be in the correct concentrations in the body in order to function properly. It is also known that the human immune system uses some metals to control or eliminate these invaders. It has been shown in several studies that fungi, especially human pathogens, present several mechanisms for metal homeostasis such as the uptake or deprivation of them. Moreover, fungi can expulse

these metals, in case of excess. The absence or the large amount of metals, both situations can cause stress conditions for fungi. The studies show a great relevance of the metals iron, zinc and copper for the fungi cells activities. By the other hand, the fungi use these metals to fight a battle with our immune system. In this work, the influence of copper levels on the biology and pathogenicity of the main fungi that cause diseases in human will be approached.

KEYWORDS: Metal; Homeostasis; Detoxification; Stress, Melanin.

1. INTRODUÇÃO

Cobre é um metal redoxiativo essencial para a vida de bactérias e eucariotos, sendo utilizado para compor algumas estruturas proteicas sendo geralmente um cofator catalítico, com atuação em diversos processos biológicos (BANCI et al, 2010; KIM; NEVITT; THIELE, 2008).

Algumas metaloenzimas, incluindo a Superóxido dismutase e a Citocromo c oxidase possuem o cobre como cofator, e atuam na detoxificação celular (TRISTÃO et al, 2015). O cobre pode estar no estado oxidado (Cu^{2+}) ou reduzido (Cu^{1+}) e, devido a isso, se há cobre livre na célula, este reagirá com o oxigênio e irá gerar espécies reativas de oxigênio que será danoso a ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas (LALIOTI et al, 2009).

O micronutriente cobre é conhecido por atuar positivamente ou negativamente, agindo na virulência de bactérias, fungos e vírus. Um exemplo é a resistência ao cobre apresentada pela *Mycobacterium tuberculosis* que se torna essencial para o sucesso da infecção (WOLCHENDORF et al, 2011).

Fungos como *Cryptococcus neoformans* (SUN et al, 2014), *Aspergillus fumigatus* (SONG; LI; JIANG, 2019) e *Paracoccidioides brasilienses* (PETITO et al, 2020) também têm a sua patogenicidade regulada pelos níveis de cobre.

O objetivo desta revisão é buscar informações na literatura, sobre a resposta de fungos patógenos

humano ao metal cobre, visando a adaptação metabólica e desenvolvimento desses microrganismos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A proposta desta revisão é de avaliar o papel e efeitos do íon cobre no metabolismo de fungos. A pesquisa foi realizada através de revisão bibliográfica buscando artigos publicados na base MEDLINE/PubMed (ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/). Com a proposta de investigação estabelecida, realizou-se a pesquisa bibliográfica utilizando os seguintes descritores de forma combinada: *Copper* e *Fungi*. Foram utilizados no estudo, artigos completos, relacionados ao tema proposto, publicado a partir do ano de 2000, sem prejuízo da utilização de artigos clássicos sobre o tema publicados anteriormente. Foram excluídas todas as produções científicas que não condiziam com os critérios acima descritos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Captção e regulação do cobre por fungos

O cobre (Cu) é uma substância essencial para várias funções em diversos organismos, sendo importante em processos bioquímicos, utilizado como cofator de várias enzimas (BANCI et al, 2010; KIM; NEVITT; THIELE, 2008). Além disso, os níveis de cobre influenciam diretamente na virulência do patógeno, bem como na resposta imune do hospedeiro (KIM; NEVITT; THIELE, 2008). Durante a infecção, os fungos enfrentam concentrações diferentes de cobre, como no exemplo de *C. neoformans*, que encontra altos níveis de cobre nos pulmões e níveis reduzidos no cérebro (SUN et al., 2014). Deste modo, os fungos necessitam de mecanismos que garantem a sobrevivência deles nestes diversificados ambientes. Análises genômicas demonstraram diversos genes relatados com a homeostase de cobre, participando efetivamente na captação e transporte celular deste elemento (SILVA et al, 2011; SILVA-BAILÃO et al, 2017).

Para a captação e utilização do cobre, o Cu^{2+} é reduzido a Cu^{1+} e transportados por metaloredutases codificadas por vários genes *fre*, primeiramente identificados no organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* (HASSETT; KOSMAN, 1995; VAN HO et al., 2002). Além disso, o Cu^{1+} é transportado para o meio intracelular por dois distintos mecanismos em *S. cerevisiae*, um de alta afinidade e um de baixa afinidade.

O transporte de alta afinidade é realizado por duas permeases, Ctr1 e Ctr3, que são dependentes de ação de metaloredutases de superfície (PENA; PUIG; THIELE, 2000; KIM; NEVITT; THIELE, 2008). O transportador Ctr3 também estão presentes em fungos do gênero *Paracoccidioides* e *Cryptococcus* (SILVA et al, 2011), e em *Exophiala dermatitidis*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Cladophialofhora bantiana* e

Cladophialofhora carrioni (SILVA-BAILÃO et al, 2017) agentes de cromoblastomicose. Alguns estudos demonstraram que quando o gene codificante do Ctr1 é deletado resulta em uma deficiência na absorção de cobre e também indiretamente na de ferro, já que a ferroxidase depende de cobre, Fet3 é essencial para absorção de ferro (VAN HO et al, 2002; RESS; THIELE, 2004). Quando Ctr1 e Ctr3 foram deletados, ocorreu uma privação intracelular do cobre em *S. cerevisiae* (PENA; LEE; THIELE, 1999; RESS; THIELE, 2004).

O Ctr2 é um transportador de baixa afinidade que está envolvido no estoque de cobre no vacúolo e na importação de cobre da membrana plasmática para dentro da célula (RESS; THIELE, 2007). Em situações de privação de cobre, Ctr2 fornece cobre do vacúolo para o citoplasma, mantendo a homeostase de cobre em *S. cerevisiae* (RESS; THIELE, 2004). Em *C. neoformans* foram identificadas proteínas envolvidas no transporte intracelular de cobre, Ctr2 e Ctr4 (WATERMAN et al, 2007; CHUN; MADHANI, 2010). Chun e Madhani (2010) revelaram em seu estudo que linhagens mutantes para o gene *ctr2* apresentaram produção diminuída de melanina e uma capsula polissacarídica menos proeminente do que a cepa selvagem. Durante a infecção de cérebros de ratos, a expressão do gene *ctr4* foi fortemente aumentada nas células fúngicas recuperadas da fagocitose por macrófagos, mas não na infecção dos pulmões (WATERMAN et al, 2007).

Adicionalmente, quando há excesso de cobre, proteínas identificadas em *S. cerevisiae* e em outros eucariotos e alguns procariotos como metalotioneínas, ricas em resíduos de cisteínas (BANCI et al. 2010) possuem a função de limpeza de metais pesados, sendo defensoras contra estresse oxidativo, distribuidores e detoxificadores intracelulares (PALMITER, 1998). Ainda em *S. cerevisiae* foram descritas duas metalotioneínas, Crs5 e Cup1, sendo que a Cup1 tem função de neutralizar o cobre quando em excesso na célula (JENSEN et al, 1996). *Paracoccidioides* spp. e *Cryptococcus* spp. não possuem ortólogos para Cup1 e Cup2 (SILVA et al, 2011).

A regulação transcricional da homeostase de cobre em *S. cerevisiae* reconhece dois fatores responsivos de cobre. O primeiro fator é Ace1 que ativa a expressão gênica em condições de excesso de cobre, ou o fator Mac1 que ativa a expressão de genes em condições de supressão de cobre (RUTHERFORD; BIRD, 2004). Em *S. cerevisiae*, Ace1 atua na ativação da expressão dos genes que codificam as metalotioneínas e da SOD1 que protegem a célula contra a toxicidade dos íons de cobre, isto na situação de excesso (THIELE, 1988; CULOTTA; HOWARD; LIU, 1994). Já no caso de supressão de cobre, Mac1 ativa a expressão de genes responsáveis pela absorção do cobre, CTR1 e CTR3 e da redutase FRE1 (LABBE; ZHU; THIELE, 1997). O fator Mac1 também atua na degradação postraducional do Ctr1 em casos de excesso do micronutriente (YONKOVICH et al, 2002). *Paracoccidioides* Pb01 e

Pb03 e *Cryptococcus* spp. possuem hortalógos para *mac1* (SILVA et al, 2011).

O fator de transcrição Cuf1 é geralmente o responsável por controlar os níveis de cobre em *C. neoformans*. O gene *cuf1* tem similaridade de sequência com *S. cerevisiae mac1* e *acel* e com o fator CUF1 em *Schizosaccharomyces pombe* (WATERMAN et al, 2007). Em *C. neoformans* o transportador Ctr4 é ativado pelo fator de transcrição Cuf1, e quando o gene *cuf1* é deletado há um forte defeito no crescimento quando em privação de cobre (WATERMAN et al, 2007).

Um outro fator relacionado com a homeostase de cobre é o Oxy2, um ativador transcricional. Estudos sugerem que o fator Oxy2 está envolvido na ativação de redutases tanto de ferro quanto de cobre e também está relacionado na ativação de transportadores de cobre (NYHUS; JACOBSON, 2004). Um outro repressor global, o Tup1, tem sido aplicado na homeostase de cobre e ferro em *C. neoformans*, sorotipo A (LEE et al, 2009). Linhagens mutantes do *tup1*, apresentaram uma diminuição na expressão do gene ligado a homeostase de cobre, quando comparado a linhagem selvagem H99 (WATERMAN et al, 2007).

Efeito na virulência dos fungos

No fungo patogênico *Botrytis cinerea*, o cobre foi fundamental para sua virulência. Cepas mutantes defeituosas na expressão de uma proteína transportadora de cobre, ATPase BcCcc2, mostraram-se avirulentos em modelo de infecção em folhas de tomate (SAITHO et al, 2010).

Durante a infecção em macrófagos por *P. brasiliensis*, a diminuição da oferta de cobre dentro do fagolisossomo afeta diretamente a sobrevivência do fungo (PETITO et al., 2020), enquanto em *A. fumigatus* a resposta foi contrária, permitindo a sua sobrevivência (WIEMANN et al, 2017).

Em estudos realizados em *C. neoformans*, o cobre está ligado com a expressão de fatores ligados a virulência dessa espécie, como a produção de melanina e a formação de uma cápsula polissacarídica (WATERMAN et al., 2007; CHUN; MADHANI, 2010). O excesso de cobre ativou a produção de melanina e ergosterol em *P. lutzii* (PORTIS et al, 2020). A melanina aumenta a virulência de muitos fungos patogênicos humanos importantes (NOSANCHUK; CASADENVAL, 2003)

Adaptabilidade fúngica em diferentes concentrações de cobre

Com a evolução das técnicas de edição gênica, genômica, transcritômica, proteômica e bioinformática vários trabalhos foram realizados na busca de entender os mecanismos de adaptação dos fungos em diversas situações de estresse. Esses métodos foram utilizados para entender a resposta fúngica à diferentes concentrações de cobre.

Buscas nos genomas de diversos fungos evidenciou um grande número de genes relacionados ao metabolismo de cobre (SILVA et al, 2011; SILVA-BAILÃO et al, 2017). Um estudo preditivo com o fungo *Paracoccidioides* spp. identificou muitas metaloproteínas proteínas que necessitam dos metais, ferro, zinco e cobre como cofatores, proteínas com funções metabólicas e de virulência (TRISTÃO et al, 2015).

Em estudo da relação entre a privação de cobre e as proteínas de matriz extracelular (MEC) em *P. brasiliensis*, evidenciou-se que as células fúngicas crescem mais na privação de cobre quando em contato com proteínas da MEC. Adicionalmente, alguns genes relacionados com a parede celular foram identificados diferencialmente expressos após a depleção com cobre em frente aos componentes do MEC, das quais 14 foram identificadas como proteínas hipotéticas. (OLIVEIRA et al, 2014).

Análises proteômicas também auxiliam bastante no entendimento da resposta ao cobre. Em *Cryptococcus gattii*, quando em condições de limitação de ferro e cobre, foram identificadas 64 proteínas diferencialmente expressas em privação de ferro e cobre, 24 em cobre e 40 em ferro (CRESTANI, 2011).

Em estudo em *P. brasiliensis* durante a privação de cobre mostrou a expressão diminuída de proteínas relacionadas com a detoxificação e respiração celular afetando diretamente esses processos biológicos; isso dá pelo fato de várias proteínas relacionado os esses processos necessitarem do cobre para funcionamento adequado. Adicionalmente, na privação de cobre há um aumento de beta-oxidação, na tentativa de compensar a deficiência na respiração celular, e também o remodelamento da parede celular do fungo (PETITO et al, 2020).

Agora, em condições de excesso de cobre, o estudo de Portis e colaboradores (2020) demonstrou que *P. lutzii* responde ao excesso desse metal aumentando a produção de melanina na parede celular e de ergosterol na membrana plasmática mostrando uma remodelação dessa membrana para a proteção contra o cobre; além disso, várias proteínas relacionadas ao metabolismo de aminoácido e de defesa celular e virulência tiveram a expressão aumentada (PORTIS et al, 2020).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta revisão da literatura, demonstramos alguns aspectos importantes relacionados à homeostase e metabolismo de microrganismos influenciados pelo cobre. Foram destacados importantes transportadores de cobre importantes na captação do íon para o meio intracelular. Adicionalmente, os reguladores de genes que respondem efetivamente às diferentes concentrações de cobre, também foram ressaltados. Em seguida, focamos em alguns aspectos da influência do metal na virulência do fungo e na expressão de proteínas. A remodelação no metabolismo celular e a expressão de fatores de virulência garantem a

sobrevivência do fungo durante a infecção no hospedeiro. Acreditamos que esta compilação dos dados referentes à assimilação e resposta de fungo ao cobre possa facilitar o acesso ao conhecimento sobre o assunto.

5. COLABORADORES

IGP, LNO, DAS, PSL e GP buscaram os artigos, analisaram, interpretaram os dados e redigiram o manuscrito.

6. REFERÊNCIAS

- [1] BANCIL L., BERTINI I., CANTINI F., CIOFI-BAFFONI S. Cellular copper distribution a mechanistic systems biology approach. *Cell Mol Life Sci.* 67; 2563-89. 2010. DOI: 10.1007/s00018-010-0330-x
- [2] CHUN C.D., MADHANI H.D. Ctr2 links copper homeostasis to polysaccharide capsule formation and phagocytosis inhibition in the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Plos one.* 5(9)e12503. 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012503>
- [3] CRESTANI, J. **Influência da alteração dos níveis de ferro e cobre na fisiologia e patogenicidade de *Cryptococcus gattii*: Uma abordagem proteômica.** Tese de doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biologia celular e molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul. 2011.
- [4] CULOTTA V.C., HOWARD W.R., LIU X.F. CRS5 encodes a methallothionein-like protein in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem.* 269(41): 25295-302. 1994.
- [5] HASSET R., KOSMAN D.J. Evidence for Cu(II) reduction as a component of copper uptake by *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bio Chem.* 270, 128-34. 1995.
- [6] KIM B.E., NEVITT T., THIELE D.J. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol United States.* 4(3): 176-85. 2008. doi: 10.1038/nchembio.72
- [7] LABBE S., ZHU Z., THIELE D.J. Copper-specific transcriptional repression of yeast genes encoding critical components in the copper transport pathway. *J Biol Chem.* 272, 15951-8. 1997.
- [8] LALIOTI V., MURUAIS G., TSUCHIYA Y., PULIDO D., SANDOVAL I.V. Molecular mechanisms of copper homeostasis. *Front Biosci United States.* 61(2):225-32. 2009. doi: 10.1006/bbrc.1999.1073.
- [9] LEE H., CHANG Y.C., VARMA A., KWON-CHUNG K.J. Regulatory diversity of TUP1 in *Cryptococcus neoformans*. *Eukaryotic Cell.* 8(12): 1901-1908. 2009. doi:[10.1128/EC.00256-09](https://doi.org/10.1128/EC.00256-09)
- [10] NOSANCHUK J.D., CASADEVALL A. The contribution of melanin to microbial pathogenesis. *Cell. Microbiol.* 5(4):203-23. 2003. doi: 10.1046/j.1462-5814.2003.00268.x
- [11] NYHUS K., JACOBSON E.S. Oxy2 as a transcriptional activator gene for copper uptake in *Cryptococcus neoformans*. *Med Mycol.* 42(4): 325-331. 2004. <https://doi.org/10.1080/13693780310001658757>
- [12] OLIVEIRA H.C., SILVA J.F., MARCOS C.M., SILVA R.P., SILVA R.A.M., LABATE M.T.V., LABATE C.A., MENDES-GIANNINI M.J.S. Alterations of protein expression in conditions of copper-deprivation for *Paracoccidioides lutzii* in the presence of extracellular matrix components. *BMC Microbiol.* 14: 302. 2014. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0302-7>
- [13] PALMITER R.D. The elusive function of metallothioneins. *Proc Nat Acad Sci USA.* 95: 8428-30. 1998.
- [14] PENA M.M., LEE J., THIELE D.J. A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *J Nutr.* 129: 1251-60. 1999.
- [15] PENA M.M., PUIG S., THIELE D.J. Characterization of the *Saccharomyces cerevisiae* high affinity copper transporter Ctr3. *J Biol Chem.* 275:33244-51. 2000.
- [16] PETITO G., DE CURCIO J.S., PEREIRA M., BAILÃO A.M., PACCEZ J.D., TRISTÃO G.B., MORAIS C.O.B., SOUZA M.V., SANTOS JUNIOR A.C.M., FONTES W., RICART C.A.O., SOARES C.M.S. Metabolic Adaptation of *Paracoccidioides brasiliensis* in Response to in vitro Copper Deprivation. *Frontiers in Microbiology.* 11: 1834 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01834>
- [17] PORTIS I.G., LIMA P.S., PAES R.A., OLIVEIRA L.N., PEREIRA C.A., PARENTE-ROCHA J.A., PEREIRA M., NOSANCHUCK J.D., SOARES C.M.A. Copper overload in *Paracoccidioides lutzii* results in the accumulation of ergosterol and melanin. *Microbiological Research.* 239:126524. 2020. doi: 10.1016/j.micres.2020.126524
- [18] RESS E.M., THIELE D.J. From aging to virulence: forging connections through the study of copper homeostasis in eukaryotic microorganisms. *Cur Opin Microbiol England.* 7(2): 175-84. 2004. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.02.004>
- [19] RESS E.M., THIELE D.J. Identification of a vacuole-associated metalloredutase and its role in Ctr2-mediated intracellular copper mobilization. *J Biol Chem United States.* 282:21629-21638. 2007. doi: 10.1074/jbc.M703397200
- [20] RUTHERFORD J.C., BIRD A.J. Metal-responsive transcription factors that regulate iron, zinc and copper homeostasis in eukaryotic cells. *Eukaryotic Cell.* 3(1): 1-13. 2004. doi: [10.1128/EC.3.1.1-13.2004](https://doi.org/10.1128/EC.3.1.1-13.2004)
- [21] SAITHO Y., IZUMITSU K., MORITA A., TANAKA C. A copper-transporting ATPase BcCCC2 is necessary for pathogenicity of *Botrytis cinerea*. *Mol Genet Genomics.* 284(1):33-43. 2010. Doi: 10.1007/s00438-010-0545-4

- [22] SILVA M., SCHRANCK A., BAILÃO A.M., BORGES C.L., STAATS C.C., PARENTE J.A., SLEM-IZACC S.M., MENDES-GIANNINI M.J.S., ZANCOPE-OLIVEIRA R.M., ROSA E SILVA L.K., NOSANCHUCK J.D., VAINSTEIN M.H., SOARES C.M.A. The homeostasis of iron, copper and zinc in *Paracoccidioides brasilienses*, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and *Cryptococcus gatti*: A comparative analysis. **Frontiers in Microbiology**. 2: 49. 2011. doi: [10.3389/fmicb.2011.00049](https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00049)
- [23] SILVA-BAILÃO M.G., SILVA K.L.P., ANJOS L.R.B., LIMA P.S., TEIXEIRA M.M., SOARES C.M.A., BAILÃO A.M. Mechanisms of copper and zinc homeostasis in pathogenic black fungi. **Fungal Biology**. 122(6): 526-537. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2017.12.002>
- [24] SONG J., LI R., JIANG J. Copper homeostasis in *Aspergillus fumigatus*: opportunities for therapeutic development. **Front. Microbiol.** 10:774. 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.00774
- [25] SUN T.S., JU X., GAO H.L., WANG T., THIELE D.J., LI J.Y., WANG Z-Y., DING C. (2014). Reciprocal functions of *Cryptococcus neoformans* copper homeostasis machinery during pulmonary infection and meningoencephalitis. **Nat. Commun.** 5:5550. 2014. doi: 10.1038/ncomms6550
- [26] THIELE D.J. ACE1 regulates expression of the *Saccharomyces cerevisiae* methallothionein gene. **Mol Cell Biol**. 8: 2745-52. 1988.
- [27] TRISTÃO G.B., ASSUNÇÃO L.P., SANTOS L.P.A., BORGES C.L., SILVA-BAILÃO M.G., SOARES C.M.A., CAVALLARO G., BAILÃO A.M. Predicting copper-, iron-, and zinc-binding proteins in pathogenic species of the *Paracoccidioides* genus. **Frontier in Microbiology**. 5:761. 2015. Doi: 10.3389/fmicb.2014.00761
- [28] WATERMAN S.R., MACHAM M., HU G., ZHU X., PARK Y-D., SHIN S., PANEPINTO J., VALVY-NAGY T., BEAM C., HUSAIN S., SINGH N.M WILLIAMSON P.R. Role of a CUF1/CTR4 copper regulatory axis in the virulence of *Cryptococcus neoformans*. **J Clin Invest**. 117(3): 794-802. 2007. doi: [10.1172/JCI30006](https://doi.org/10.1172/JCI30006)
- [29] WOLCHENDORF F., AKCKART D., SHRESTHA T.B., HASCALL-DOVE L., NOLAN S., LAMICHHANE G., WANG Y., BOSSMANN SH., BASARABA R.J., NIEDERWEIS M. Copper resistance is essential for virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. **Proc Natl Acad Sci**. 108(4):1621-6. 2011. doi: 10.1073/pnas.1009261108
- [30] YONKOVICH J., MCKENNDRY R., SHI X., ZHU Z. Copper ion-sensing transcription factor Mac1p post-transnationally controls the degradation of its target gene product Ctr1p. **J Biol Chem United States**. 23981-4, 2002.