

M. Solioz, K.-D. Bissig

Institut für Klinische Pharmakologie,  
Universität Bern

## Wie (kein) Kupfer krank macht<sup>1</sup>

### Summary

#### *How (no) copper causes disease*

Copper is an essential cofactor in all cells. However, it remains largely unknown how cells deal with this element, which is essential yet toxic. Through the study of microbial model systems on the one hand, and the inves-

tigation of inherited diseases in copper metabolism on the other, important insights into the way cells deal with copper can be gained. Two key new elements of copper metabolism have emerged from these studies: ATP-driven copper pumps and intracellular copper transport proteins, the copper chaperones.

### Zusammenfassung

Kupfer erfüllt als Kofaktor eine wichtige Rolle in der Zelle. Wie die Zelle allerdings mit diesem sowohl giftigen als auch essentiellen Element umgeht, ist praktisch unbekannt. Durch das Studium der Kupferhomöostase in mikrobiologischen Modellsystemen einerseits und der molekularbiologischen Untersuchung menschlicher Erbkrankheiten im Kupfermetabolismus

andererseits konnten in den letzten Jahren wesentliche Erkenntnisse gewonnen werden, wie Zellen mit Kupfer umgehen. Zwei neue Kernelemente der Kupferhomöostase haben sich dabei herausgeschält: ATP-getriebene Kupferpumpen und intrazelluläre Kupfertransportproteine, die Kupfer-Chaperones.

### Das Menkes-Syndrom führt zu Kupfermangel

In den frühen 60er Jahren beschrieb der amerikanische Pädiater John Menkes ein seltenes Krankheitsbild, an dem Kinder im Alter von 2–3 Jahren starben: das Menkes-Syndrom [1]. Es war X-chromosomal vererbt und bewirkte ein neurologisches Entwicklungsdefizit, Hypopigmentation der Haut, arterielle und ossäre Anomalien sowie defekte Keratinsynthese der Haare. Die Pathophysiologie des Syndroms blieb aber vorerst unerkannt. Es war der australische Arzt David Danks, der als erster Hinweis für die Ursache des Menkes-Syndroms lieferte. Er hatte während eines Forschungs-

aufenthalts an der Johns Hopkins University in Baltimore mit John Menkes zusammengearbeitet. 1962 kehrte David Danks nach Melbourne zurück. Dort kam er auch in Kontakt mit Wissenschaftlern der dort angesiedelten School of Agriculture and Forestry. Ihre Arbeiten über die Ernährung von landwirtschaftlichen Tieren waren weltweit führend – und von ihnen erfuhr Prof. Danks von Schafen, die an Kupfermangel starben. Tiere, die auf sehr kupferarmen Böden grasten, entwickelten neurologische Schäden, bekamen blasse, spröde Wolle und verendeten. Danks erkannte sofort

---

*Korrespondenz:*  
Dr. phil. Marc Solioz,  
Klinische Pharmakologie,  
Universität Bern,  
Murtenstrasse 35,  
CH-3010 Bern  
e-mail: marc.solioz@ikp.unibe.ch

<sup>1</sup> Die im Labor des Autors durchgeführten Arbeiten wurden zum Teil durch den Forschungskredit 3200-046804 des Schweizerischen Nationalfonds finanziert.

die Parallele zu den Menkes-Symptomen. Der Vergleich von Gewebe von Schafen und Kindern bestätigte seine Vermutung: In beiden Proben fand er dieselben biochemischen und morphologischen Veränderungen; er hatte erkannt,

dass das Menkes-Syndrom Kupfermangel verursacht [2]. Wie aber aus einer genetischen Krankheit Kupfermangel resultieren konnte, wusste er nicht. Es sollte der Wissenschaft auch noch lange verborgen bleiben.

## Der Zufall führt zum Kupfer-Gen

Erst 1992, genau 20 Jahre nachdem David Danks das Menkes-Syndrom und Kupfer in Verbindung gebracht hatte, wurde in Bern ein wichtiger Grundstein zum Verständnis der Kupfer-Homöostase gelegt. Auch dabei war ein Informationsaustausch über Gebietsgrenzen hinweg entscheidend gewesen. Am Institut für Klinische Pharmakologie studierten wir seit einigen Jahren die Kalium-Aufnahme durch unser Modellbakterium *Enterococcus hirae*. Der Versuch, das Gen für die Kaliumpumpe zu klonieren, misslang jedoch. Wir hatten statt dessen ein Gen mit unbekannter Funktion isoliert und sequenziert. Wir gaben ihm den Arbeitsnamen «Z3» und legten es «auf Eis». Protokolleintrag: *Z3, gene with unknown function, store -70°*. Durch einen Zufall kamen wir etwas später in Kontakt mit der Gruppe von David Cooksey, die an der kalifornischen River Valley University Pflanzenschädlinge studierten. Ihr Interesse galt einem Bakterium, das Tomatenkulturen angreift – trotz der sonst wirksamen Besprühung mit Kupfersulfat. Aus diesen Bakterien hatten Cooksey's Mitarbeiter ein Gen kloniert, welches die Bakterien kupferresistent macht. Auffällig an diesem Gen

war, dass es für ein an Methionin reiches Protein kodiert. Wir erinnerten uns, dass auch unser unbekanntes Z3-Gen für ein auffallend Methionin-reiches Protein kodiert. Hatte Z3 etwas mit Kupfer zu tun?

Die entscheidenden Tests waren schnell gemacht: Wildtyp-*E.-hirae*-Zellen konnten in einem Wachstumsmedium mit hohem Kupfergehalt wachsen – sie waren kupferresistent! Das war für uns neu und überraschend. Zerstörten wir nun aber das Z3-Gen (sozusagen Knock-out-Bakterien), dann verloren die Bakterien ihre Kupferresistenz. Dies deutete darauf hin, dass Z3 von der Zelle gebraucht wird, um überschüssiges, toxisches Kupfer auszuscheiden. Aber nach welchem Mechanismus? Kupferausscheidung durch Mikroorganismen war zwar in der Literatur einige Male beschrieben worden, jedoch fanden wir keine Hinweise auf den möglichen Mechanismus. Von höheren Organismen fehlte gar jeglicher Hinweis auf Kupfer-Transportsysteme in der Zellmembran. Da Ionen transport seit Jahren unser Spezialgebiet war, nahmen wir die Herausforderung an und wandten uns dem Kupfertransport zu.

## Die ATP-getriebenen Kupferpumpen

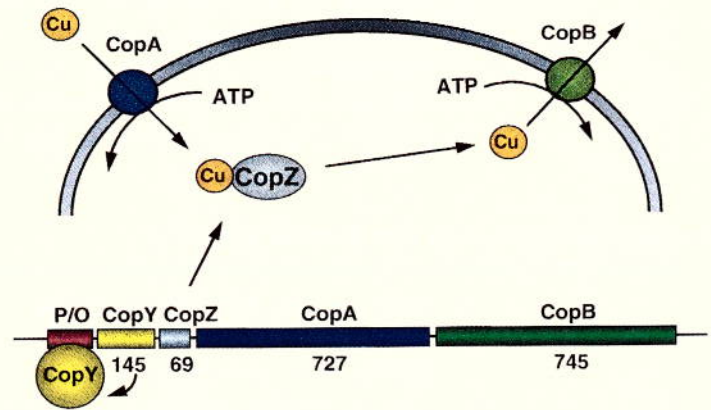
In Bakterien sind Gene, die an derselben metabolischen Funktion beteiligt sind, meist auch auf dem Genom gruppiert. Also klonierten wir aus *E. hirae* weitere Gene beidseits von Z3. In der Folge fanden wir noch drei Gene, die im Copper-Metabolismus mitzuwirken schienen und die wir sinngemäss *copY*, *copZ* und *copA* nannten und die dem *copB*-Gen (dem alten Z3) vorangestellt waren (Abb. 1). Die vier Gene bilden ein Operon, das heisst, sie werden gemeinsam reguliert und transkribiert. Sequenzvergleiche zwischen den *cop*-Genprodukten und der genetischen Datenbank zeigten, dass CopA und CopB<sup>2</sup> zur Familie der Transport-ATPasen gehören, die mittels der Energie von

ATP-Ionen durch die Zellmembran transportieren; klassische Repräsentanten dieser Enzyme sind die Kalziumpumpe des Sarkoplasmas oder die NaK-ATPase der Plasmamembranen höherer Zellen. Diese Verwandtschaft sowie der Zusammenhang von CopB und Kupferresistenz legten sofort die Annahme nahe, dass CopA und CopB neuartige Kupferpumpen sind. Dies konnte bald experimentell bewiesen werden [3, 4]. Die Kupferpumpen waren geboren. Aber nicht nur in Bakterien. Auf der Suche nach dem Gendefekt in Menkes-Patienten hatten ein amerikanisches, ein englisches und ein australisches Team gleichzeitig das «Menkes»-Gen kloniert [5–7]. Es kodiert für eine ATPase mit sehr hoher Ähnlichkeit zu der CopB-Kupfer-ATPase von *E. hirae*. Da das Menkes-Gen zudem mit einer kupfermetabolischen Krankheit assoziiert war, kodiert es aller

<sup>2</sup> Folgende Schreibweise ist in Bakterien üblich: Gennamen klein und kursiv geschrieben (*copB*), Genprodukte gross und in Normalschrift geschrieben (CopB). Für höhere Organismen gelten andere Regeln.

Abbildung 1

Kupferhomöostase in *Enterococcus hirae*. Der *cop*-Operon besteht aus vier Genen und einer Promoter/Operator (P/O)-Region und kodiert für die mit Namen und Anzahl Aminosäuren angegebenen Genprodukte. Sie regulieren die Verfügbarkeit von intrazellulärem Kupfer. Ist zu wenig Kupfer verfügbar, pumpt die CopA-ATPase Kupfer in die Zelle; ist die zytoplasmatische Kupferkonzentration zu hoch, pumpt die CopB-ATPase überschüssiges Kupfer aus der Zelle. Das Chaperone CopZ übernimmt den intrazellulären Kupfertransport. Die Expression aller vier *cop*-Gene wird durch den kupfersensiblen CopY-Repressor reguliert. Kupfer liegt wahrscheinlich immer in der Kupfer(I)-Form vor.



Wahrscheinlichkeit nach ebenfalls für eine Kupferpumpe.

Aber vorerst waren die Hinweise auf ATP-getriebenen Kupfertransport durch *copB* oder das Menkes-Genprodukt indirekt. Kupfertransport musste direkt gezeigt werden. Ionentransport durch die Zellmembran wird normalerweise mit Radioisotopen gemessen. Kupfer-64 hat jedoch eine Halbwertszeit von unter 13 Stunden und ist in Europa nicht kommerziell erhältlich. Also reiste einer von uns in das befreundete Labor von Jane Gitschier am Howard Hughes Medical Center in San Francisco, wo Kupfer-64 verfügbar war. Die Trans-

portexperimente gelangen fast auf Anhieb. Wir konnten tatsächlich zeigen, dass *copB* für eine Kupferpumpe kodiert, die mittels ATP als Energiequelle Kupfer aus der Zelle transportiert [8]. Da wir in *E. hirae* leicht einzelne oder mehrere Gene gezielt ausschalten können, war es möglich, einen Artefakt auszuschliessen: Zellen mit CopA und CopB sekretierten Kupfer; Zellen ohne CopA sekretierten immer noch Kupfer, Zellen ohne CopA und ohne CopB sekretierten kein Kupfer mehr. Daraus folgte: CopB ist für die Sekretion von Kupfer verantwortlich.

## Das Wilson-Syndrom führt zu Kupferüberschuss

In den folgenden Jahren explodierte die Kupferforschung förmlich. Die Entdeckung des Menkes-Gens wurde im selben Jahr gefolgt von der Identifikation des Wilson-Gens, das für die zweite menschliche Kupferpumpe kodiert [9, 10]. Die Wilson-Krankheit ist eine weitere bekannte Erbkrankheit des Kupfermetabolismus. Dabei ist die Ausscheidung von Kupfer gestört, und es häuft sich in der Leber, später auch in

anderen Organen an, bis es zu schwerwiegenden Organschäden kommt. Offensichtlich besitzen menschliche Zellen mindestens zwei Kupferpumpen, und deren Defekt ruft die Menkes- beziehungsweise die Wilson-Krankheit hervor. Wo und wie in der Zelle diese Kupferpumpen funktionieren, ist aber immer noch Gegenstand laufender Untersuchungen.

## Der bakterielle Kupferkreislauf

Seit der Entdeckung der ersten Kupferpumpen 1992/93 konnten wesentliche Fortschritte im Verständnis der Kupferhomöostase gemacht werden, vor allem in den beiden Modellsystemen *Saccharomyces cerevisiae* (Hefe) und *E. hirae*. Ein ziemlich komplettes Bild der Kupferhomöostase präsentiert sich uns heute in *E. hirae* (Abb. 1). Vier Proteine scheinen in diesem Bakterium für einen geordneten Kupfer-

haushalt notwendig und genügend zu sein, namentlich CopA, CopB, CopY und CopZ. CopA und CopB sind Kupferpumpen, die, angetrieben von ATP, Kupferionen durch die Zellmembran transportieren. Dabei pumpt CopA Kupfer von aussen nach innen, wenn das lebensnotwendige Kupfer in der Zelle knapp wird, und CopB pumpt Kupfer aus der Zelle, wenn es droht, toxische Konzentrationen zu er-

reichen. Wir konnten auch zeigen, dass die Expression dieser Proteine mit dem Kupfergehalt des Mediums variiert. Ist die Kupferkonzentration im physiologischen Bereich, bindet der CopY-Repressor an die DNA und verhindert

die Biosynthese aller vier *cop*-Gene; ist die ambiente Kupferkonzentration zu hoch, löst sich CopY von der DNA und erlaubt maximale Expression der *cop*-Gene [11–13].

## Die Anstandsdamen der Kupferionen

Was war nun aber die Rolle von CopZ? Die Funktion dieses Proteins aus nur 69 Aminosäuren blieb uns lange verborgen. Die Lösung kam schliesslich aus der Hefeforschung. An der Johns Hopkins University in Baltimore, wo John Menkes 1962 das Menkes-Syndrom entdeckt hatte, entdeckten Su-Ju Lin und Valeria Cizewski Culotta 33 Jahre später eine neue Komponente der Kupferhomöostase. Sie isolierten ein Hefegen, das die Zellen vor Oxidationsschäden schützte, und nannten es Atx1 für «anti oxidative damage» [14]. Es stellte sich später heraus, dass Atx1, das ebenfalls nur aus 73 Aminosäuren besteht, dem intrazellulären Kupfertransport dient [15]. Ein Vergleich von Atx1 und unserem CopZ legte sofort den Schluss nahe, dass CopZ dieselbe Funktion wie Atx1 erfüllt. Diese Proteine nehmen Kupfer in Empfang, wenn es in die Zelle tritt, und befördern es sicher dorthin, wo es von der Zelle gebraucht wird. Entsprechend dieser Begleitfunktion wurde der Begriff «Chaperones» (Anstandsdamen) für diese intrazellulären Kupfertransporter geprägt. Dies war ein neues, überraschendes Konzept. Aber es ist ein naheliegender Mechanismus: Kupferionen sind für die Zelle extrem toxisch und dürfen sich keinesfalls frei in der Zelle bewegen. Heute sind weitere Metall-Chaperone bekannt, nicht nur für Kupfer, sondern auch für Quecksilber und Mangan [16, 17]. Es wird angenommen, dass es eine Vielzahl von Chaperones gibt, nicht nur für die verschiedenen Metallionen, sondern auch für den Transport eines bestimmten Metallions zu verschiedenen Zielen innerhalb der Zelle.

Da Chaperones kleine Proteine sind, konnte die Faltung von MerP [18] und CopZ mittels Magnetresonanz aufgeklärt werden (Abb. 2). Andere Kupfer-Chaperones, wie Atx1 aus Hefe oder das menschliche HAH1, teilen wahrscheinlich diese Struktur [19]. Man könnte die Faltung dieser Proteine eine «Wienerli-mit-Brot»-Struktur nennen: Zwei  $\alpha$ -Helices (Wienerli) liegen auf einem antiparallelen  $\beta$ -Faltblatt (Brot). Das Metallion bindet primär an die zwei Cysteine in der beweglichen Schlaufe zwischen dem ersten  $\beta$ -Strand und der ersten  $\alpha$ -Helix. Diese Art der Kupferkomplexierung ist neu in biologischen Systemen. Sie ist offenbar adaptiert an die spezielle Funktion der Chaperones und erlaubt einen relativ leichten Austausch von Kupfer zwischen Proteinen. Wie schon bei den Kupfer-ATPasen zeigt sich auch hier eine erstaunliche evolutionäre Konservierung von Struktur und Funktion, vom Bakterium zum Menschen.

Im *E.-hirae*-System konnten wir eine Reihe grundlegender Erkenntnisse und experimenteller Hinweise gewinnen. Da Elemente der Kupferhomöostase in der Evolution erstaunlich konserviert blieben, sind unsere Erkenntnisse für das Studium anderer Kupfertransportsysteme von Nutzen. So hat wahrscheinlich unsere Erkenntnis, dass Kupfer in der einwertigen Cu(I)-Form transportiert wird, allgemeine Gültigkeit für Kupfer-ATPasen; ebenso die Entdeckung, dass sie auch Silber(I)-Ionen transportieren können (letzteres hat kaum biologische Bedeutung, ist aber ein wichtiges experimentelles Werkzeug). Ferner haben wir eine Methode zur Reinigung und funktionellen Rekonstitution von CopB in Lipidvesikeln erarbeitet, die auch auf andere Kupfer-ATPasen anwendbar sein dürfte. Wichtige Erkenntnisse kamen aber auch vom Studium der Kupferhomöostase in Hefe. In diesem Modellorganismus konnte ein weiterer Kupfertransporter, Ctr1, identifiziert werden [20]. Ctr1 ist wichtig für die Kupferaufnahme der Zelle und kommt auch in menschlichen Zellen vor [21]. Zudem konnte in Hefe gezeigt werden, dass ein Defekt in der «Menkes/Wilson»-Kupfer-ATPase die Aufnahme von Eisen blockiert. Die Eisenaufnahme in Hefe ist gekoppelt an eine

### Abbildung 2

Kupfer-Chaperone-Struktur. Die Faltung des Chaperones CopZ wurde nach der Struktur von MerP moduliert. Demnach bildet CopZ ein  $\beta$ -Faltblatt (gelb) mit zwei darüberliegenden  $\alpha$ -Helices (rot). Der N-Terminus ist ganz links im Bild. Die Kupfer(I)-Bindungsstelle wird von einer flexiblen, exponierten Schlaufe des Proteins gebildet.



kupferhaltige Ferrooxidase, Fet3. Kein Kupfer – keine Ferrooxidase – kein Eisentransport [22]. Fet3 hat grosse Ähnlichkeit mit menschlichem Coeruloplasmin, und die Eisen-Kupfer-«Connection» wirft neue Fragen auf, nicht

nur im Verständnis der Kupfer- und Eisenhomöostase im Menschen, sondern auch in der Behandlung von Eisen- und Kupferstoffwechselkrankheiten.

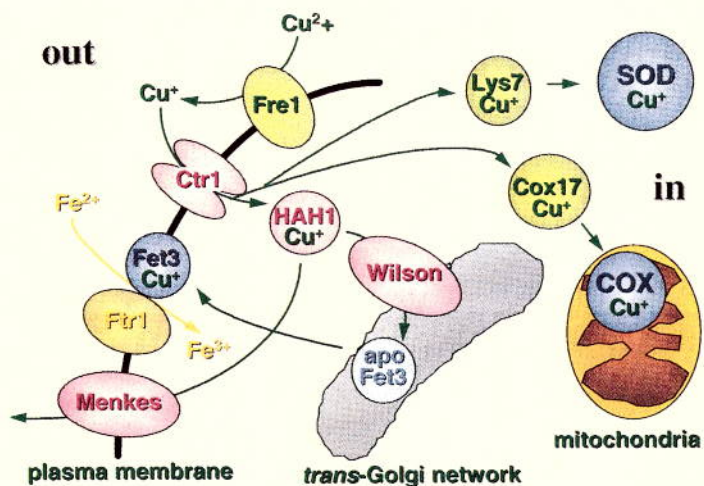
## Von Fakten zu Fiktionen

Abbildung 3 ist der Versuch einer Synthese des Kupferstoffwechsels einer Säugerzelle. Dabei wurden Erkenntnisse und Komponenten von bakteriellen und Hefemodellsystemen frei integriert. Das Modell ist zwangsläufig unvollständig und in einigen Teilen sehr spekulativ. Zudem wird das endgültige Bild weit komplexer sein. Es ist anzunehmen, dass weitere Proteine für den Kupfertransport in Endosomen,

Lysosomen, in den Nucleus und andere Kompartemente existieren. Viele zusätzliche Gene des Kupfermetabolismus harren also noch ihrer Entdeckung. Diese Gene zu finden und ihre Funktion zu identifizieren, direkt oder über Modellsysteme, wird die Herausforderung in der Kupferforschung für die nächsten Jahre sein.

**Abbildung 3**

Hypothetisches Schema der Kupferhomöostase in Säugerzellen. Nur die roten Komponenten wurden tatsächlich in diesen Zellen charakterisiert; andere Komponenten sind aus Hefe oder Bakterien «geliehen». Cuproenzyme sind blau. Kupfer(II) wird extrazellulär durch Fre1 zu Kupfer(I) reduziert und durch Ctr1 in die Zelle aufgenommen (in Hefe haben Fre1 und das verwandte Fre2 auch Eisenreduktaseaktivität und sind Teil des Eisentransports). Zytoplasmatisches Kupfer wird durch das Chaperone HAH1 zur Wilson-ATPase befördert, die es in ein *trans*-Golgi-Kompartement pumpt. Dort wird Kupfer für die Synthese der Eisenreduktase Fet3 gebraucht. Fet3 ist eine essentielle Komponente der Eisenaufnahme durch Ftr1 und hat Ähnlichkeit mit Coeruloplasmin (eine membrangebundene Form von Coeruloplasmin wurde kürzlich beschrieben; H. McArdle, persönliche Mitteilung). Zytoplasmatisches Kupfer wird auch durch das Lys7-Kupfer-Chaperone an Superoxiddismutase (SOD) und durch das Chaperone Cox17 an die mitochondriale Zytochromoxidase (COX) geliefert. Weitere spezifische Chaperones werden vermutet. Überschüssiges Kupfer wird schliesslich durch die Menkes-ATPase ausgeschieden. Diese ATPase wird je nach Kupferkonzentration entweder in der Plasmamembran oder im *trans*-Golgi-Netzwerk gefunden.



## Literatur

- Menkes JH, Milton A, Steigleder GK, Weakley DR, Sung JH. A sex-linked recessive disorder with retardation of growth, peculiar hair, and focal cerebral and cerebellar degeneration. *Pediatrics* 1962;29:764–79.
- Danks DM, Campbell PE, Walker-Smith J, Stevens BJ, Gillespie JM, Blomfield J. Menkes's kinky-hair syndrome. *Lancet* 1972;i:1100–2.
- Odermatt A, Suter H, Krapf R, Solioz M. An ATPase operon involved in copper resistance by *Enterococcus hirae*. *Ann N Y Acad Sci* 1992;671:484–6.
- Odermatt A, Suter H, Krapf R, Solioz M. Primary structure of two P type ATPases involved in copper homeostasis in *Enterococcus hirae*. *J Biol Chem* 1993;268:12775–9.
- Chelly J, Tümer Z, Tonnesen T, Petterson A, Ishikawa Brush Y, Tommerup N, et al. Isolation of a candidate gene for Menkes disease that encodes a potential heavy metal binding protein (see comments). *Nature Genet* 1993;3:14–9.
- Mercer JFB, Livingston J, Hall B, Paynter JA, Begy C, Chandrasekharappa S, et al. Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by positional cloning. *Nature Genet* 1993;3:20–5.
- Vulpe C, Levinson B, Whitney S, Packman S, Gitschier J. Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper transporting ATPase. *Nature Genet* 1993;3:7–13.
- Solioz M, Odermatt A. Copper and silver transport by CopB-ATPase in membrane vesicles of *Enterococcus hirae*. *J Biol Chem* 1995;270:9217–21.
- Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nature Genet* 1993;5:327–37.
- Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, Pellequer JL, Wasco W, Ross B, et al. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nature Genet* 1993;5:344–50.
- Odermatt A, Krapf R, Solioz M. Induction of the putative copper ATPases, CopA and CopB, of *Enterococcus hirae* by Ag<sup>+</sup> and Cu<sup>2+</sup>, and Ag<sup>+</sup> extrusion by CopB. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;202:44–8.
- Odermatt A, Solioz M. Two *trans*-acting metalloregulatory proteins controlling expression of the copper-ATPases of *Enterococcus hirae*. *J Biol Chem* 1995;270:4349–54.
- Strausak D, Solioz M. CopY is a copper-inducible repressor of the *Enterococcus hirae* copper ATPases. *J Biol Chem* 1997;272:8932–6.
- Lin SJ, Culotta VC. The Atx1 gene of *Saccharomyces cerevisiae* encodes a small metal homeostasis factor that protects cells against reactive oxygen toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:3784–8.

- 15 Pufahl RA, Singer CP, Peariso KL, Lin S, Schmidt PJ, Fahrni CJ, et al. Metal ion chaperone function of the soluble Cu(I) receptor Atx1. *Science* 1997;278:853-6.
- 16 Culotta VC, Klomp LW, Strain J, Casareno RL, Krems B, Gitlin JD. The copper chaperone for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1997;272:23469-72.
- 17 Lin SJ, Culotta VC. Suppression of oxidative damage by *Saccharomyces cerevisiae* Atx2, which encodes a manganese-trafficking protein that localizes to Golgi-like vesicles. *Mol Cell Biol* 1996;16:6303-12.
- 18 Steele RA, Opella SJ. Structures of the reduced and mercury-bound forms of MerP, the periplasmic protein from the bacterial mercury detoxification system. *Biochemistry* 1997;36:6885-95.
- 19 Klomp LW, Lin SJ, Yuan DS, Klausner RD, Culotta VC, Gitlin JD. Identification and functional expression of HAH1, a novel human gene involved in copper homeostasis. *J Biol Chem* 1997;272:9221-6.
- 20 Dancis A, Yuan DS, Haile D, Askwith C, Eide D, Mochle C, et al. Molecular characterization of a copper transport protein in *S. cerevisiae* – an unexpected role for copper in iron transport. *Cell* 1994;76:393-402.
- 21 Zhou B, Gitschier J. hCTR1: a human gene for copper uptake identified by complementation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:7481-6.
- 22 Yuan DS, Dancis A, Klausner RD. Restriction of copper export in *Saccharomyces cerevisiae* to a late Golgi or post-Golgi compartment in the secretory pathway. *J Biol Chem* 1997;272:25787-93.