ยีสต์ทูไฮบริดที่สร้างขึ้นในงานวิจัยนี้เป็นเซลล์ยีสต์ Y187 ที่มีพลาสมิด 2 ชนิด คือ pGAD-SRC1 และ pGBK-ERα ซึ่งสามารถผลิตโปรตีนสายผสม AD-SRC1 และ BD-ERα และมียีนรายงานคือ β-galactosidase gene โดยยีสต์ทูไฮบริดสามารถตรวจวัดเอสโตรเจนแอคติวิตีของตัวอย่างที่ต้องการทดสอบได้ หากตัวอย่างดังกล่าวสามารถจับกับเอสโตรเจนรีเซฟเตอร์ (โปรตีน BD-ERα) ซึ่งมีผลให้โปรตีน AD-SRC1 สามารถเข้าจับกับเอสโตรเจนรีเซฟเตอร์ได้และทำให้เกิดการแสดงออกของยีนβ-galactosidase ซึ่งสามารถวัดได้ผลผลิตที่เกิดจากการเปลี่ยนสารตั้งต้น ONPG เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสีเหลืองที่วัดค่าได้จากการดูดกลืนแสงที่ 420 nm จากการตรวจสอบยีสต์ทูไฮบริดที่ได้ในการวัดเอสโตรเจนแอคติวิตีของสารมาตรฐาน 17β-estradiol พบว่าสามารถตรวจวัดได้ในช่วงความเข้มข้น 10^{-10} – 10^{-4} M เมื่อใช้ยีสต์ทูไฮบริดในการตรวจวัดเอสโตรเจนแอคติวิตีของสารสกัดหยาบของสมุนไพร 6 ชนิด คือ รากสามสิบ ว่านมหาเมฆ โกฐหัวบัว โกฐเขมา โกฐสอ และดอกคำฝอย นอกจากนี้ยังได้ตรวจวัดเอสโตรเจนแอคติวิตีในยาตำรับ/ผลิตภัณฑ์ 3 ชนิด ได้แก่ ยาเม็ดสตรีปอเซียง ยาปราบชมพูทวีป และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารกวาวเครือสกัดคัพดี ซึ่งพืชและยาตำรับดังกล่าวมีสรรพคุณที่สันนิษฐานว่าอาจมีส่วนประกอบของสารไฟโตเอสโตรเจนซึ่งมีเอสโตรเจนแอคติวิตี นอกจากนี้ยังได้ทดสอบกับสารสกัดหยาบของหัวไชเท้าเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมแบบลบ พบว่าพืชสมุนไพรที่ทดสอบทั้ง 6 ชนิดมีเอสโตรเจนแอคติวิตีจากมากไปน้อยคือ โกฐสอ > โกฐหัวบัว > รากสามสิบ > โกฐเขมา > ดอกคำฝอย > ว่านมหาเมฆ สำหรับยาตำรับ/ผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด คือ ปอเซียง® ปราบชมพูทวีป® และคัพดี® พบว่ามีเอสโตรเจนแอคติวิตีใกล้เคียงกัน สำหรับสารสกัดหยาบจากหัวไชเท้าซึ่งใช้เป็นตัวอย่างควบคุมพบว่าไม่มีเอสโตรเจนแอคติวิตี

Abstract

231204

Constructed yeast two hybrid system in this work is based on yeast Y187 cells containing pGAD-SRC1and pGBK-ERα which can produce AD-SRC1 and BD-ERα fusion proteins, and β-galactosidase reporter gene. Estrogenic activity of samples can be evaluated by the yeast two hybrid system if the samples can bind to estrogenic receptor protein (BD-ERα), which then induce AD-SRC1 protein binding and initiate expression of β-galactosidase reporter gene. Activity of β-galactosidase can be measured from the product of ONPG at the absorption of 420 nm. The constructed yeast two hybrid system was tested by measuring estrogenic activity of the standard 17β-estradiol. The result showed that the system could measure estrogenic activity of 17β-estradiol in a range of $10^{-10} - 10^{-4}$ M. In addition, the yeast two hybrid was used to determine estrogenic activity of six crude extracts of medicinal plants. The results showed that all plant extracts exhibited estrogenic activity; *Angelica sylvestris* > *Conioselinum univitatum* > *Asparagus racemosus* > *Atractylodes lancea* > *Carthamus tinctoriüs* > *Curcuma aeruginosa*. In addition, the yeast two hybrid system was used to evaluate estrogenic activity of three commercial medicinal/food supplement products (Pochiang®, Prabchompootaweep® and CupD®). All three commercial products exhibited similar levels of estrogenic activity. White radish (*Raphanus sativus*), a negative control, exhibited no estrogenic activity.