บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

ในปัจจุบันการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่เพื่อพัฒนาเป็นยารักษาโรคชนิดใหม่ยังเป็นที่ต้องการอยู่ตลอดเวลา เนื่องจากปัญหาของการใช้ยาที่มีอยู่ในปัจจุบัน เช่น การดื้อต่อยาของเชื้อโรค ยามีผลข้างเคียงสูง ยาที่มีอยู่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคไม่เพียงพอ รวมทั้งยังมีโรคชนิดใหม่เกิดขึ้น เป็นผลทำให้งานวิจัยที่พัฒนาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่เพื่อพัฒนาเป็นยายังคงมีอย่างแพร่หลายและต่อเนื่อง

วิธีการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยทั่วไป ใช้หลักการที่สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถยับยั้งการเจริญของ เซลล์บ่งชี้ (indicator cell) เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ หรือ ปรสิตก่อโรคต่างๆ หรือระบบการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์อื่นๆที่มีการใช้ทั่วไป เนื่องจากวิธีดังกล่าวนี้เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปทำให้มีความเป็นไปได้สูงที่จะพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดเดิมที่ได้มีการค้นพบก่อนหน้านี้แล้ว ดังที่ National Cancer Institute ของสหรัฐอเมริกา ได้รายงานว่า จากการทดสอบสาร 114,500 ชนิด ที่สกัดได้จากพืช 35,000 ชนิด นักวิจัยของสถาบันไม่พบสารต่อต้านมะเร็งชนิดใหม่เลย ดังนั้นการพัฒนาวิธีการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีหลักการใหม่จะช่วยเพิ่มโอกาสในการพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ยังอาจไม่ถูกค้นพบโดยวิธีการคัดกรองที่มีอยู่เดิมหรืออาจค้นพบฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่จากสารออกฤทธิ์ที่มีการค้นพบแล้วได้

งานวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพโดยใช้ยีสต์เป็นเซลล์บ่งชี้มีหลากหลาย เนื่องจากยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่ถูกจัดเป็น eukaryote ขั้นพื้นฐาน ซึ่งได้ถูกใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบ (model organism) ในการศึกษากระบวนการทางชีวภาพ (biological process) ในระดับโมเลกุลและระดับเซลล์ เช่น การศึกษากระบวนการควบคุมการแบ่งเซลล์ (regulation of cell cycle) ของ eukaryote และของเซลล์มะเร็ง (Botstein และคณะ, 1997., Hartwell, 2002)

ยีสต์สามารถเลี้ยงได้ง่าย มีวัฏจักรการแบ่งเซลล์ (cell cycle) สั้นประมาณ 90 นาที เพิ่มจำนวนเร็ว เสียค่าใช้จ่ายน้อยเมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเซลล์ ถูกจัดอยู่ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีความปลอดภัย (generally recognized as safe หรือ GRAS) และสามารถดัดแปลงทางพันธุกรรมได้ง่ายและรวดเร็วกว่า เช่น การทำลายยีน (gene disruption) การติดตามยีน(gene marking) การกลายพันธุ์ (mutation) และการศึกษาผลของจำนวนชุดของยีน (gene-dosage effect) สาเหตุหนึ่งเนื่องมาจากเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆในกลุ่ม eukaryote แล้ว ยีสต์มีอัตราการเกิด recombination สูง ทำให้การแทรกชิ้นดีเอ็นเอที่ต้องการสามารถทำได้โดยง่ายโดยใช้เทคนิค

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์เรส (Wach และคณะ, 1994) อีกทั้งข้อมูลลำดับเบสของทั้งจีโนม (Goffeau และคณะ, 1996) รวมทั้งลำดับเบสที่คาดว่าจะเป็น open reading frame (ORF) จำนวน 6,466 ORF (Kumar และคณะ, 2002) ได้ถูกรายงานอย่างสมบูรณ์ (complete genome sequences) และข้อมูลที่เกี่ยวข้องก็สามารถเข้าถึงได้โดยทั่วไปดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 เวปไซต์ของฐานข้อมูลหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับยีสต์

ฐานข้อมูลหรืองานวิจัย	เวปไซต์
General yeast genome and proteome databases	
Saccharomyces Genome Database (SGD Stanford)	http://www.yeastgenome.org/
Comprehensive Yeast Genome Database (CYGD-MIPS)	http://mips.gsf.de/genre/proj/yeast/index.jsp
Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)	http://www.genome.jp/kegg/
Yeast mutant collections	
Saccharomyces Genome Deletion Project	http://www.sequence.stanford.edu/group/yeast_deletion_project/
EUROpean Saccharomyces Cerevisiae ARchive for Functional analysis (EUROSCARF)	http://web.unifrankfurt.de/fb15/mikro/euroscarf/

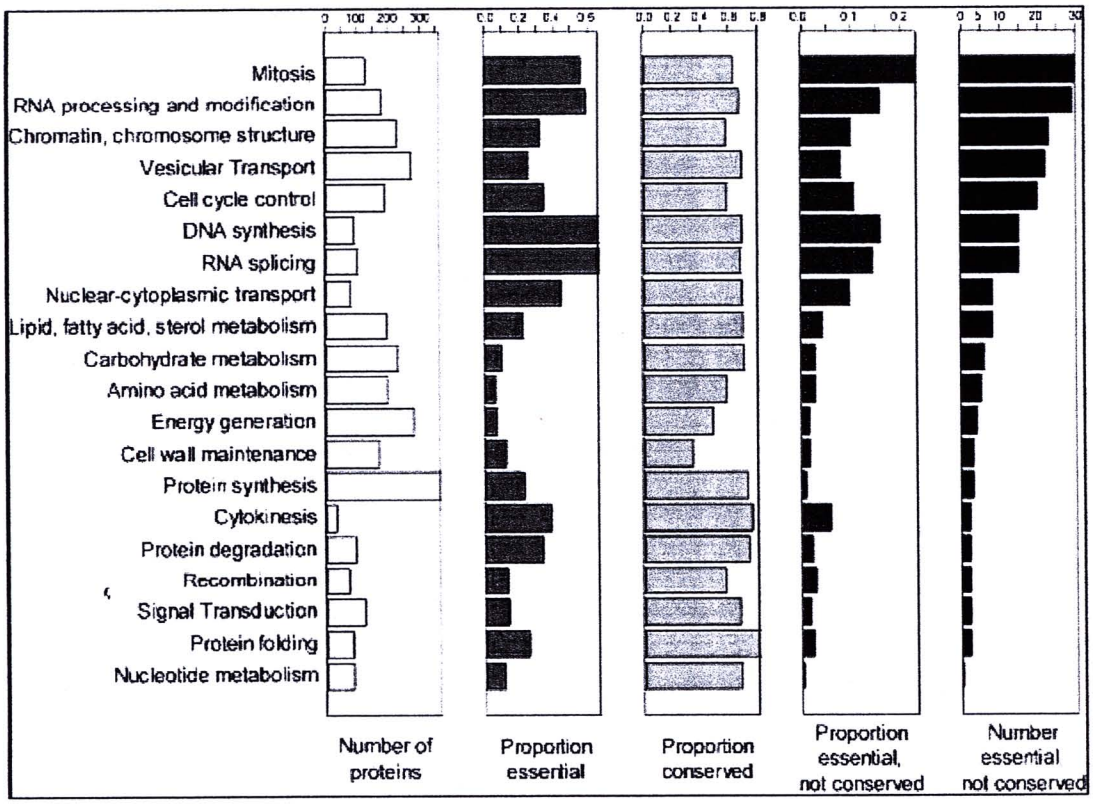
ที่มา Mager และ Winderickx, 2005

ตารางที่ 2.1 เวปไซด์ของฐานข้อมูลหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับยีสต์ (ต่อ)

ฐานข้อมูลหรืองานวิจัย	เวปไซด์
Yeast–mammalian or yeast–human homology searches	
Mammalian homology to yeast (SGD)	http://www.yeastgenome.org/mammal/
Clusters of orthologous groups of proteins (COGs)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/
Discover homologs (Homologene)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?dbZhomologene
Yeast–human diseases	
Mitochondria-related proteins, genes and diseases (MitoP)	http://ihg.gsf.de/mitop2/
Yeast homologs of human disease-associated genes	http://mips.gsf.de/proj/yeast/reviews/human_diseases.html

ที่มา Mager และ Winderickx, 2005

กระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้นในยีสต์ดังกล่าวเช่น การสังเคราะห์โปรตีน การแบ่งตัว การสังเคราะห์และซ่อมแซมดีเอ็นเอ เป็นต้น นั้นคล้ายกับของในเซลล์สิ่งมีชีวิตชั้นสูง (higher eukaryotes) (Mager และ Winderickx, 2005) ดังรูปที่ 2.1 พบว่าประมาณ 2% ของโปรตีนของมนุษย์สามารถใช้เป็นเป้าหมายของยารักษาโรคได้ (Drews, 1996) และจากการเปรียบเทียบจีโนมของมนุษย์และยีสต์พบว่าประมาณ 50% ของยีนที่ทราบแล้วว่าเกี่ยวข้องกับการก่อโรคในมนุษย์



ที่มา Timothy R. Hughes, 2001

รูปที่ 2.1 ความสัมพันธ์ของ essential gene ที่ทำหน้าที่หลักในมนุษย์และยีสต์

คล้ายกับยีสต์ (Hartwell, 2004) รวมทั้งผลการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างยาและโมเลกุลเป้าหมาย (drug target) ทั้งของในยีสต์และในมนุษย์มีความใกล้เคียงกันมาก ดังเช่น โมเลกุลเป้าหมายของสารกดภูมิคุ้มกัน Rapamycin ถูกค้นพบในยีสต์ก่อนและถูกยืนยันผลในมนุษย์ในเวลาต่อมา (Heitman และคณะ, 1991) จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ยีสต์เหมาะสมที่จะถูกนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาหายาชนิดใหม่ๆ เช่นในขั้นตอนของงานวิจัยที่พัฒนาวิธีคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่ใช้หลักการที่ต่างไปจากหลักการเดิมๆที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน

การทดสอบหาหน้าที่ของโปรตีนของมนุษย์ภายใต้สภาวะที่อยู่ในเซลล์ยีสต์และการทดลองหาหน้าที่ของแต่ละเป้าหมายของยาในสี่กลุ่มหลักได้แก่ ion channel, nuclear receptor, G-protein-coupled-receptors (GPCRs) และเอนไซม์ ทำให้สามารถนำผลที่ได้มาประยุกต์ใช้สำหรับการใช้ยีสต์เป็นเครื่องมือในการคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่ ดังนี้

M2 polypeptides ของไวรัสมีผลให้โปรตอนไหลจาก endosome เข้ามาใน virion ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลงและกระตุ้นในเกิด virus uncoating ซึ่งเป็นช่วงแรกของวัฏจักรการติด

เชื้อไวรัส คณะนักวิจัยพบว่าเมื่อนำโปรตีนดังกล่าวไปแสดงออกในยีสต์ทำให้ยีสต์มีการเจริญเติบโตลดลง การพัฒนาวิธีการคัดกรองจากหลักการนี้ทำให้สามารถพบสารที่สามารถยับยั้งการแบ่งตัวของไวรัสได้ใน plaque reduction assay โดยมีค่า IC_{50} คือ 0.26 ไมโครโมลาร์ (Kurtz และคณะ, 1995)

เนื่องจาก GPCRs ของมนุษย์มีลักษณะโครงสร้างคล้ายกับโปรตีน Ste2 ของยีสต์ซึ่งเป็น mating pheromone receptor ดังนั้นเมื่อนำมาแสดงออกในยีสต์ทำให้พบว่า ligand ที่จับกับ GPCR สามารถกระตุ้นการทำงานของวิถีการส่งสัญญาณของ pheromone และกระตุ้นยีนที่จำเพาะต่อ mating ได้เช่นเดียวกับการกระตุ้นการทำงานของ mating pheromone receptor ของยีสต์จากข้อมูลนี้ทำให้มีการพัฒนาการคัดกรองหา ligand ที่จำเพาะต่อ GPCR โดยใช้ยีสต์ซึ่งมีการเชื่อมยีนรายงานผลต่อเข้ากับ promoter ของยีนที่จำเพาะต่อ mating เช่น pFUS1- lacZ (Dowell และ Brown, 2002)

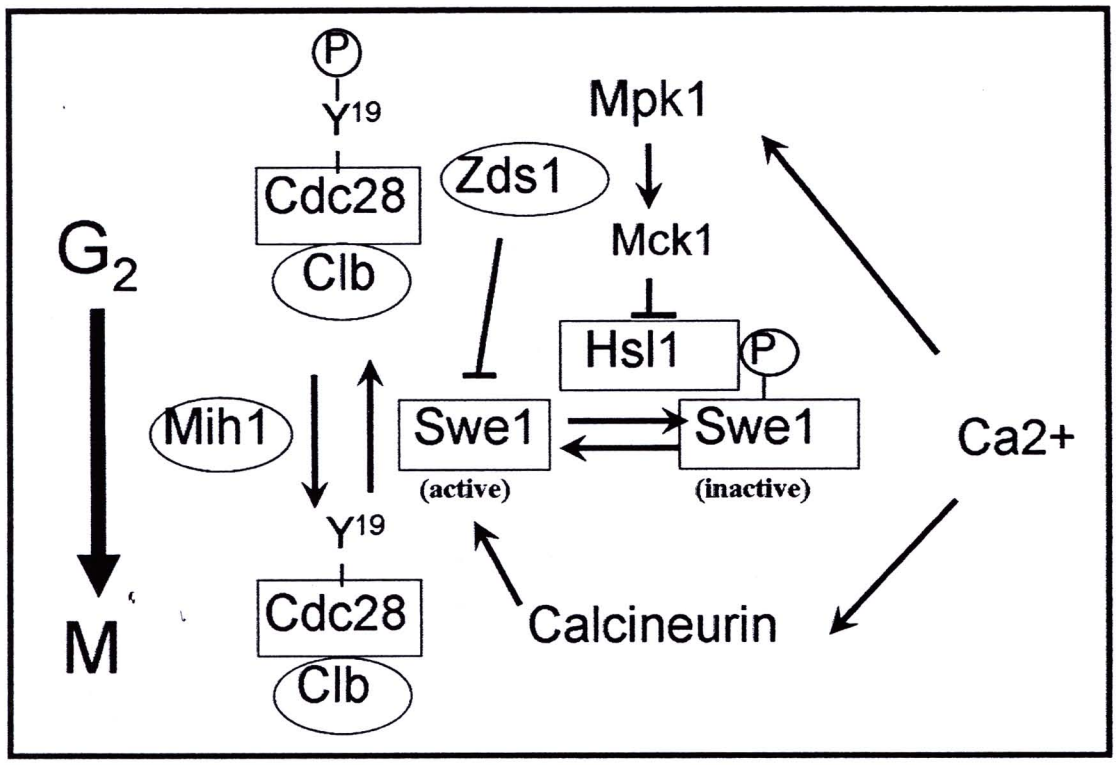
Perkins และคณะ (2001) รายงานว่า สามารถคัดกรองสารออกฤทธิ์ยับยั้ง human poly(ADP-ribose)polymerase 1 (PARP1) โดยใช้ระบบยีสต์และพบสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่ PARP1 เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย้าย poly(ADP-ribose) ของโปรตีนหลายชนิดรวมทั้งโปรตีน p53 และการทำงานของ PARP1 จะถูกกระตุ้นเมื่อเกิดการทำลายดีเอ็นเอสายคู่ และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ทำให้สามารถใช้ประโยชน์เป็นยาควบคุมการตอบสนองต่อการเกิดการทำลายดีเอ็นเอที่ใช้เป็นยาต้านมะเร็งได้ โดยเมื่อนำ PARP1 ไปแสดงออกในยีสต์เป็นผลทำให้ยีสต์ไม่สามารถเจริญได้ ถ้ามีสารไปยับยั้งการทำงานของ PARP1 ได้จะทำให้ยีสต์สามารถกลับมาเจริญเติบโตได้ตามปกติ

Bach และคณะ (2003) ได้ใช้ระบบยีสต์ในการคัดกรองหายาต้าน prion ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรควัวบ้า โดยทำการค้นหาสารยับยั้งโปรตีน [PSI+] และ [URE3] ซึ่งเป็นโปรตีนของยีสต์ที่มีลักษณะคล้าย prion ของมนุษย์และพบว่าสารยับยั้ง prion ชนิดใหม่ที่คัดแยกได้จากการทดลองนี้สามารถยับยั้ง prion ของมนุษย์ได้ทำให้สามารถสรุปอีกอย่างได้ว่ากลไกการเกิด prion มีการอนุรักษ์ (conserve) จากยีสต์สู่มนุษย์

Middendrop และคณะ (2004) ทำการคัดกรองหาสารยับยั้งเอนไซม์ ß secretase โดยใช้ระบบยีสต์ เอนไซม์ ß secretase เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการตกตะกอนของเปปไทด์ amyloid- ß ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรค Alzheimer และจากการคัดกรองพบสารที่สามารถลดการตกตะกอนของเปปไทด์ amyloid- ß โดยมีค่า IC_{50} ที่ 7 ไมโครโมลาร์ อีกทั้งสารดังกล่าวสามารถยับยั้งเอนไซม์ ß secretase ในระบบยีสต์ได้ที่ความเข้มข้นเท่ากัน แสดงว่าระบบยีสต์นี้สามารถใช้เป็นระบบคัดกรองหาสารยับยั้งการเกิดโรค Alzheimer ได้

Shitamukai และคณะ (2000) ศึกษายีสต์สายพันธุ์กลายที่ไม่มียีน *ZDS1* (Δzds1) พบว่า เมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูง เซลล์จะไม่สามารถเจริญได้ เนื่องจากวิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียม (Ca^{2+} signaling pathway) ถูกกระตุ้น และขาดโปรตีน Zds1 ที่ทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของโปรตีน Swe1 จึงทำให้โปรตีน Swe1 อยู่ในสภาวะที่สามารถทำงานได้ เป็นผลทำให้เซลล์หยุดหรือชะลอการแบ่งเซลล์อยู่ในระยะ G2 Swe1 เป็นโปรตีนไคเนส ในสภาวะที่ทำงานได้ (active form) จะทำการเติมหมู่ฟอสเฟตที่ตำแหน่งไทโรซีนที่ 19 บน Cdc28 ทำให้โปรตีนเชิงซ้อน Clb-Cdc28 ไม่อยู่ในสภาวะที่ทำงานได้ เซลล์จึงหยุดอยู่ในระยะ G2 ของ วัฏจักรการแบ่งเซลล์ซึ่งควบคุมระยะการแบ่งเซลล์จาก G2 ไปสู่ระยะ mitosis ดังรูปที่ 2.2 ดังนั้นยีสต์สายพันธุ์กลายดังกล่าวจึงไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูง แต่ถ้ามีสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กไปยับยั้งที่ส่วนใดส่วนหนึ่งของวิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียมจะทำให้ยีสต์สายพันธุ์กลายดังกล่าวสามารถเจริญในสภาวะที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมสูงได้

วิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียม (Ca^{2+} signaling pathway) เป็นหนึ่งในวิถีสำคัญที่มีบทบาทต่อการควบคุม การแบ่งตัวเพิ่มจำนวน (cell proliferation) การกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิด T-cell (T-cell activation) กระบวนการหลั่งสาร (secretion) การหดตัวของกล้ามเนื้อ (muscle contraction) รวมถึงการหลั่งสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง (Clapham,1995) สำหรับในยีสต์ *S. cerevisiae* วิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียม (ดังรูปที่ 2.2) ควบคุมขั้นตอนการแบ่งเซลล์ในระยะ mitosis โดยการควบคุมการทำงานของโปรตีน Swe1 ซึ่งเป็นโปรตีนไคเนส (protein kinase) โปรตีน Swe1 จะเติมหมู่ฟอสเฟต (phosphorylate) ให้โปรตีน Cdc28 ซึ่งเป็น cyclin-dependent protein kinase ซึ่งทำให้โปรตีน cyclin-Cdc28 ไม่มีแอกทิวิตี ทำให้เซลล์หยุดหรือชะลอการแบ่งเซลล์อยู่ที่ระยะ G2 (Booher และคณะ 1993; Mean, 1994) วิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียมที่ควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์เกิดขึ้นโดย 2 วิถีคู่ขนานได้แก่ วิถีที่ส่งสัญญาณของแคลเซียมผ่าน calcineurin และวิถีที่ส่งสัญญาณของแคลเซียมผ่าน Mpk1 โดยทั้งสองวิถีนี้ทำงานร่วมกันในการกระตุ้นการทำงานของโปรตีน Swe1 (Mizunuma และคณะ, 1998) ในเซลล์ปกติจะมีโปรตีน Zds1 ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง (negative regulator) (Bi และ Pringle, 1996) ทำให้เกิดความสมดุลย์ระหว่างสัญญาณการกระตุ้นและยับยั้งการทำงานของโปรตีน Swe1



รูปที่ 2.2 แบบจำลองวิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียม (Ca^{2+} signaling pathway) **ในยีสต์** *S. cerevisiae* (Mizunuma **และคณะ**, 1998)

Shitamukai และคณะ (2000) ได้เสนอว่ายีสต์สายพันธุ์กลายดังกล่าวสามารถใช้เป็นเซลล์บ่งชี้ (indicator cell) ในระบบคัดกรองหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับวิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียมได้ โดยระบบนี้ใช้หลักการที่แตกต่างไปจากระบบที่ใช้กันอยู่ทั่วไป เป็นการเพิ่มโอกาสที่จะพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ และสารออกฤทธิ์ที่ได้จะมีความจำเพาะกับโมเลกุลเป้าหมายสูง ถ้าสารออกฤทธิ์ไปยับยั้งที่โปรตีน Mpk1 (เป็นโปรตีน MAP kinase ชนิดหนึ่ง) สารออกฤทธิ์นี้น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็งหรือสารต้านการอักเสบ เนื่องจากโปรตีน Mpk1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในวิถีส่งสัญญาณแคลเซียมนี้มีความคล้ายคลึงกับ *ERK1/ERK2* ในมนุษย์ (Surgiura และคณะ, 2002) ในเซลล์มะเร็งนั้น ERK1/ERK2 จะถูกกระตุ้นตลอดโดย Ras เป็นผลให้เกิดการส่งเสริมการแบ่งเซลล์ในเซลล์มะเร็ง และ *ERK1/ERK2* เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ โดยที่เมื่อ *ERK1/ERK2* ถูกกระตุ้นนั้นจะไปควบคุมการทำงานของ transcription factor ในกลุ่ม AP-1 โดย AP-1 transcription factor ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างไซโตไคน์ IL-2 ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของ T-cell ดังนั้นถ้าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีโมเลกุลเป้าหมายเป็น calcineurin สารออกฤทธิ์ที่จะได้น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ต้านการอักเสบหรือสารกดภูมิคุ้มกันเป็นต้น ·ตัวอย่างรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารยับยั้งวิถี *ERK1/ERK2* มีดังนี้

Duan และคณะ (2004) รายงานว่า U0126 ซึ่งเป็นสารยับยั้งวิถี *ERK1/ERK2* สามารถยับยั้ง OVA ในการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophilia ในกระแสเลือดและการเกิดเมือกที่ทางเดินหายใจ รวมทั้งการแสดงออกของ VCAM-1 ในเนื้อเยื่อปอดของหนูได้ และจากผลของการศึกษาปอดหนูที่กระตุ้นด้วย OVA และวิเคราะห์โดยวิธี western blot พบว่า U0126 สามารถป้องกันการกระตุ้นวิถี *ERK1/ERK2* อันเนื่องมาจาก OVA ได้ แสดงว่าการยับยั้งวิถี *ERK1/ERK2* สามารถที่จะใช้เป็นแนวทางการรักษาโรคภูมิแพ้ที่เกี่ยวกับทางเดินหายใจได้

Sebolt-Leopold และคณะ (1999) รายงานว่า PD184352 (CL-1040) ซึ่งเป็นสารยับยั้งวิถี *ERK1/ERK2* สามารถยับยั้งการเจริญของมะเร็งได้ โดยพบว่าจากการให้สารดังกล่าวโดยวิธีกินพบว่าสารดังกล่าวสามารถป้องกันการเจริญของมะเร็งลำไส้ในสัตว์ทดลองได้ ซึ่งจากการตรวจสอบพบว่าเกี่ยวข้องกับการลดการกระตุ้นวิถี *ERK1/ERK2* ซึ่งแปรผันตามความเข้มข้นของสารที่ให้

ถ้าสารออกฤทธิ์ไปยับยั้งที่โปรตีนไคเนส Mck1 สารออกฤทธิ์นี้น่าจะเป็นสารออกฤทธิ์ต้านโรคเบาหวานประเภทที่ 2 (Diabetes type 2) และหรืออาจเป็นสารต้านโรค Alzheimer's เนื่องจากโปรตีน Mck1 ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในวิถีส่งสัญญาณแคลเซียมนี้มีความคล้ายคลึงกับ GSK-3ß ในมนุษย์ (Kassir และคณะ, 2006) GSK-3ß มีกลไกการทำงานตรงกันข้ามกับกระบวนการสร้าง glycogen (Nikoulina และคณะ, 2000) ในผู้ป่วยโรคเบาหวานพบว่ามีระดับของ GSK-3ß ผิดปกติ ดังนั้นการยับยั้ง GSK-3ß น่าจะสามารถนำไปรักษาโรคเบาหวานได้ นอกจากนี้ในระบบประสาทส่วนกลางของผู้ป่วยโรค Alzheimer's ได้ถูกพบการเกิดการตกตะกอนของโปรตีน Tau สาเหตุเนื่องมาจากการระดับของ GSK-3ß ผิดปกติมีการเติมหมู่ฟอสเฟตให้โปรตีน Tau มากจนทำให้โปรตีนสูญเสียรูปร่างและจับตัวตกตะกอนเกิดเป็น amyloid ในระบบประสาทส่วนกลางส่งผลให้เซลล์สมองหรือระบบประสาทส่วนกลางเสียหาย (Bhat และคณะ, 2004)

เนื่องจาก calcineurin ในยีสต์ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในวิถีการส่งสัญญาณแคลเซียมนี้มีความคล้ายคลึงกับ calcineurin ในมนุษย์ โดยมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อแคลเซียม มีโมเลกุลเป้าหมายที่สำคัญอย่างหนึ่งได้แก่ transcription factor ในกลุ่ม Nuclear factor of activated T cells (NFAT) ซึ่งปกติอยู่ในไซโตพลาสซึม แต่ถ้า calcineurin ถูกกระตุ้น จะเกิดการขนส่ง NFAT เข้าไปยังนิวเคลียสเพื่อไปกระตุ้นยีนประมวลรหัสไซโตไคน์ ได้แก่ IL-2 ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้น T-cell (Sugiura และคณะ, 2002) ตัวอย่างยาที่ยับยั้ง calcineurin ได้แก่ FK506 และ cyclosporine A ซึ่งเป็นยากดภูมิคุ้มกันที่มีการใช้กันอยู่ทั่วไป

ดังนั้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าจะได้จากวิธีการคัดกรองในระบบยีสต์นี้ ได้แก่ สารต้านการอักเสบ สารกดภูมิคุ้มกัน และสารต้านมะเร็ง เป็นต้น ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างโมเลกุลเป้าหมายกับฤทธิ์ทางชีวภาพในระบบคัดกรองที่ใช้ยีสต์สายกลาย $\Delta zds1$ เป็นเซลล์บ่งชี้

โมเลกุลเป้าหมาย	ฤทธิ์ทางชีวภาพ
Calcineurin	Immunosuppressants, Allergy remedy
MPK1 (ERK1, ERK2)	Anticancer agent, Anti-inflammatory
MCK1 (GSK-3)	Alzheimer disease, Type II diabetes

ยาที่ใช้ในปัจจุบันกว่า 25 % ได้มาจากพืช (Hostettman และคณะ, 2001) และจากการที่ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นของโลก ทำให้มีความหลากหลายของพันธุ์พืชสูง จากรายงานของ World Bank ในปี 1992 พบว่าประเทศไทยมีพืชไม่ต่ำกว่า 14,000 สายพันธุ์ ดังนั้นการศึกษาวิจัยและพัฒนายาซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ที่ได้มาจากพืชจะเป็นการช่วยแก้ปัญหาการพึ่งพายานำเข้าที่ทำให้ไทยต้องขาดดุลการค้าปีละกว่า 20,000 ล้านบาทได้ และทำให้ประชาชนสามารถเข้าถึงยาอย่างทั่วถึง รวมทั้งยังเป็นการแก้ปัญหายาราคาแพงได้ ดังนั้นในงานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งทำการคัดกรองและศึกษาหาสารออกฤทธิ์จากพืชในประเทศไทยโดยใช้ระบบยีสต์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งวิถีการส่งสัญญาณของแคลเซียมเป็นระบบคัดกรองตามที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น รวมทั้งศึกษาถึงลักษณะสมบัติและโมเลกุลเป้าหมายเบื้องต้นของสารออกฤทธิ์ในยีสต์ ซึ่งจะเป็นพื้นฐานของการศึกษาและพัฒนาเป็นยารักษาโรคที่มีความจำเพาะต่อโมเลกุลเป้าหมายต่อไป