

VIGS技术引入分子生物学实验教学实践

郑先喆^{1,2}, 禹小波^{1,2*}

¹乐山师范学院生命科学学院, 四川 乐山

²乐山师范学院西南特色经济植物杂交与育种研究中心, 四川 乐山

收稿日期: 2025年9月28日; 录用日期: 2025年12月16日; 发布日期: 2025年12月25日

摘要

随着分子生物学技术的快速发展, 传统分子生物学实验教学中实验设计碎片化、验证性实验占比过高、前沿技术和实际应用融入不足等问题日益凸显。本研究将病毒诱导的基因沉默(Virus-Induced Gene Silencing, VIGS)技术引入分子生物学实验教学, 设计了以烟草脆裂病毒(TRV)为载体、番茄为模式植物、SIPDS基因功能为研究目标的实验体系。通过构建VIGS载体、农杆菌介导的植物接种、表型观察及基因表达分析等实验环节, 使学生掌握基因功能研究的核心分子生物学技术。通过教学实践, 提升学生的分子操作技能和科研思维能力, 为高校分子生物学实验教学改革提供借鉴。

关键词

VIGS, 分子生物学, 实验教学

Practice of VIGS Technology in Molecular Biology Experiment Teaching

Xianzhe Zheng^{1,2}, Xiaobo Yu^{1,2*}

¹College of Life Science, Leshan Normal University, Leshan Sichuan

²Southwest Research Center for Cross Breeding of Special Economic Plants, Leshan Normal University, Leshan Sichuan

Received: September 28, 2025; accepted: December 16, 2025; published: December 25, 2025

Abstract

With the rapid advancement of molecular biology techniques, the limitations of traditional molecular biology experimental teaching have become increasingly apparent. These include fragmented

*通讯作者。

experimental designs, an overreliance on verification-based experiments, and a lack of integration between cutting-edge technologies and practical applications. This study integrates Virus-Induced Gene Silencing (VIGS) technology into the molecular biology laboratory curriculum by designing an experimental framework that utilizes the Tobacco rattle virus (TRV) as a vector, tomato as the model plant, and the functional analysis of the SLPDS gene as the research focus. Through a series of experimental modules-such as VIGS vector construction, Agrobacterium-mediated plant transformation, phenotypic observation, and gene expression analysis-students gain mastery of core molecular biology techniques used in gene function research. This teaching approach effectively improves students' molecular operational skills and scientific research abilities, offering valuable insights for reforming molecular biology experimental teaching in higher education institutions.

Keywords

Virus-Induced Gene Silencing, Molecular Biology, Experiment Teaching

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

1.1. 高校分子生物学实验教学的现状

在高校中，分子生物学实验是生物学相关专业的必修实验课程，旨在让学生掌握现代分子生物学研究的基本原理、方法和技术，培养学生的动手能力和创新能力，并建立基因功能研究的理论体系[1]。然而，随着生命科学的研究的快速发展，传统的分子生物学实验教学内容与形式已逐渐暴露出诸多不适应新时代人才培养需求的问题。

首先，实验内容的“碎片化”现象十分普遍。多数高校的分子生物学实验课程仍以孤立的、技术点为导向的实验项目为主，如质粒提取、PCR 扩增、酶切连接、电泳检测等。这种“碎片化”教学导致学生虽掌握了单个技术的操作流程，却无法形成完整的“基因功能研究技术链”，毕业后面对实际科研项目时，常出现“上手难、衔接慢”的问题。这种“只见树木，不见森林”的教学模式，严重制约了学生综合运用知识解决实际问题的能力培养。

其次，验证性实验占比过高，探究性与设计性严重不足。目前大多数分子生物学实验教材提供了极为详细的步骤，学生只需按部就班操作即可获得预期结果。同时，诸多实验可以通过商品化的试剂盒完成，学生只需按照说明书操作即可，但是对于实验过程的原理和问题缺乏思考。这种“菜谱式”的实验虽然能保证成功率，便于课堂管理，但却极大地压抑了学生主动思考、自主设计的空间。学生在这种被动接受的过程中，难以体验真实的科研情境——即面对未知问题，需要自行设计实验方案、优化条件、分析异常结果并调整策略。长此以往，学生的创新意识与批判性思维得不到有效锻炼。

此外，实验内容与前沿科研进展及实际应用严重脱节。近些年来，分子生物学技术发展迅猛，CRISPR/Cas9 基因编辑、病毒诱导基因沉默(virus induced gene silencing, VIGS)等技术已成为科研与产业领域的核心工具。然而在本科分子生物学实验教学中，很多技术并未融入课堂教学中，导致学生所学技能与科研前沿或生物技术产业需求存在明显落差，难以满足“新工科”、“新农科”背景下对创新型、复合型人才的要求。学生毕业后从事相关研究工作时，需重新学习相关技术，增加了企业的培训成本，也降低了学生的就业竞争力。

因此, 对分子生物学实验教学进行系统性改革, 引入综合性、前沿性、探究性的实验项目, 构建以学生为中心、以真实科研问题为导向的教学模式, 已成为当前高校生命科学人才培养的迫切需求。

1.2. 病毒诱导基因沉默(VIGS)技术的原理与技术优势

VIGS 技术源于植物天然的 RNA 沉默机制[2]。当病毒侵染植物细胞后, 会合成大量的双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA), 并被宿主细胞中的 Dicer 酶识别和切割成一系列小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)。这些 siRNA 与一系列蛋白形成蛋白沉默复合体, 然后与宿主植物的 mRNA 结合, 并介导 mRNA 的降解, 抑制其翻译, 从而降低宿主植物基因的表达水平[3]。在此基础上, 研究人员通过构建携带目标基因片段的病毒载体, 然后利用农杆菌介导侵染植物, 最终诱导目标基因的瞬时沉默, 使植物出现不同的表型。例如, 利用 VIGS 技术沉默番茄红素脱氢酶(phytoene desaturase, PDS)的表达后, 使得类胡萝卜素合成受阻, 植株出现白化现象[4]。相比于 RNA 干扰和 CRISPR/Cas9 基因编辑技术, VIGS 技术在某些应用场景下展现出独特优势。例如, 对于某些在胚胎发育早期必需、进行传统敲除会导致致死的基因, VIGS 可以在特定生长发育阶段或特定组织中实现基因功能的敲降, 从而研究其功能。此外, 在多年生木本植物、某些难转化作物或非模式生物中, 建立稳定的遗传转化体系非常困难且耗时。鉴于 VIGS 技术具有无需进行遗传转化、实验周期短、操作步骤简便、成本低廉等优点, 目前已被成功应用于番茄、本氏烟、拟南芥、水稻、小麦等多种植物的基因功能研究中, 成为功能基因组学研究中的重要工具之一[5]。

1.3. VIGS 技术引入高校分子生物学实验教学的意义

将 VIGS 技术引入本科分子生物学实验教学, 具有多方面的深远意义, 高度契合当前实验教学改革的方向。

一方面, VIGS 实验体系涵盖了现代分子生物学研究的核心流程, 形成了一个完整且逻辑严密的技术闭环。这一完整链条使学生能够亲身实践从“基因”到“表型”的完整研究路径, 将原本孤立的实验技术点有机地串联起来, 深刻理解各项技术在实际科研中的应用场景与相互关系。

另一方面, VIGS 实验具有很强的探究性与设计性。在具体实验过程中, 每个实验环节都存在很多变量, 需要学生根据理论知识进行判断和优化, 而非简单遵循固定流程。当实验结果不理想时, 学生需要分析可能的原因, 并设计验证实验进行排查。这个过程极大地锻炼了学生发现问题、分析问题和解决问题的能力, 培养了严谨的科研思维习惯。

目前, 已有将 VIGS 技术与教学实验相融合的案例。例如: 北京大学将烟草 VIGS 实验引入生物技术专业本科生的专业实验课中[6]。普通生物学、高级蔬菜栽培学等对应的实验课程均有将 VIGS 实验与教学相结合的案例[7][8], 均证明了该技术在本科分子生物学实验教学中的适用性和价值, 为本研究的开展提供了重要参考。然而, 上述案例均只关注了最终基因沉默后的植株表型, 并未对前期的实验过程进行教学和评估, 未将 VIGS 技术体系完整地融入实验教学中。基于此, 本研究根据分子生物学实验教学目标, 在整个实验教学过程中融入 VIGS 技术体系, 让学生完整掌握分子生物学的各项技术, 并融会贯通。同时, 本研究选择番茄作为研究对象, 即可以作为基础研究的模式植物代表, 也可以与农业生产相关联, 相比于上述部分案例以模式植物烟草作为研究对象, 更贴近生产实践。因此, 本研究将 VIGS 技术引入分子生物学实验教学, 是应对当前教学痛点、提升教学质量、培养创新人才的一条行之有效的路径。

2. 实验教学方案设计

2.1. 实验目标

本实验以番茄 micro-tom 品种为实验材料, SIPDS 基因功能为研究目标, 通过设计核酸提取、基因扩

增、载体构建、瞬时表达、表性分析等一系列实验，让学生亲自参与该过程，熟练掌握各项技术，提升学生的动手能力和思考能力，培养学生的科研思维。

2.2. 实验材料与仪器

2.2.1. 实验材料

矮生番茄种子(Micro-tom)及幼苗、大肠杆菌感受态细胞 DH5 α 、农杆菌感受态细胞 GV3101、高保真 DNA 聚合酶试剂盒、Taq DNA 聚合酶试剂盒、无缝克隆试剂盒、通用型 DNA 纯化回收试剂盒、质粒提取试剂盒、RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、LB 培养基、卡那霉素、庆大霉素、壮观霉素、利福平、琼脂糖、50×TAE 核酸电泳缓冲液、侵染液(10 mM 2-吗啉乙磺酸、10 mM MgCl₂、200 μM 乙酰丁香酮)等。

2.2.2. 实验仪器

PCR 仪、电泳仪、凝胶成像仪、冰箱、离心机、水浴锅、灭菌锅、细菌培养箱、摇床、电子天平、真空泵、1 mL 注射器等。

2.3. 实验设计

2.3.1. 载体构建

取幼嫩番茄叶片，使用 RNA 提取试剂盒提取番茄总 RNA，并利用反转录试剂盒获取 cDNA。从番茄基因组数据库中获取 *SIPDS* 基因的 CDS 序列，然后以 cDNA 为模板，设计引物扩增 *SIPDS* 的 VIGS 片段(300 bp)。将获得的基因片段通过无缝克隆的方式连接到 pTRV2 质粒上，然后转入大肠杆菌中，通过菌落 PCR 鉴定阳性菌落，并送公司测序。提取测序正确的质粒，转入农杆菌 GV3101 中，并通过菌落 PCR 获取阳性克隆。同时，将 pTRV1 和 pTRV2 空质粒也转入农杆菌 GV3101 中，并通过菌落 PCR 获取阳性克隆。

2.3.2. 番茄幼苗农杆菌侵染

将番茄种子种植在装有营养土的小花盆中，在植物温室中培养，培养条件为温度 25℃，16 h/8 h 光暗比，直至两片子叶完全展开，且真叶未长出。将保存的 pTRV1、pTRV2、*SIPDS*::pTRV2 农杆菌加入 LB 培养基中(含有 50 mg/L 卡那霉素，50 mg/L 庆大霉素和 25 mg/L 利福平)，28℃、180 rpm 过夜培养。将菌液在 3000 rpm 离心 10 min，然后用农杆菌侵染液重悬菌体，将 OD 值调整至 1.0，并静置 2 h 后，将 pTRV1 与 pTRV2 或 *SIPDS*::pTRV2 等比混合。用 1 mL 注射器吸取菌液，从子叶背后注射入番茄子叶中，然后继续培养直至表型出现，并拍照记录。同时，提取基因沉默植株和对照组植株叶片的 RNA，反转录成 cDNA 后，通过定量 PCR 技术检测 *SIPDS* 基因的表达水平。

2.4. 评价体系

从番茄种植，核酸提取、基因扩增、载体构建、瞬时转化、表型观察、基因表达验证等实验过程中评价学生的操作规范程度，并根据实验报告的记录评价学生对每项实验技能的掌握程度，最后对学生的学
习效果进行综合评价。

2.5. 常见问题及解决办法

1) RNA 提取过程中可能出现降解，电泳条带弥散。该问题可能是由于学生在操作过程中未注意操作细节，引入了外界 RNA 酶，导致 RNA 被降解。因此，需要学生戴好手套和口罩，在通风橱中进行操作，且所用试剂耗材均无 RNA 酶污染。

2) 基因的 VIGS 片段扩增不出，或电泳有杂带。该问题可能是引物设计不合理，或者 PCR 扩增条件不对导致。这类问题需要学生设计多条引物进行尝试，或者通过调整 PCR 的反应条件(如退火温度、延伸

时间等)来解决问题。

3) 大肠杆菌侵染或者农杆菌侵染无菌落生长。该问题可能是抗生素使用错误, 或者培养温度设置错误导致。在大肠杆菌培养时, 使用的是卡那霉素, 且温度为 37℃。在农杆菌培养时, 使用的是卡那霉素、庆大霉素和利福平, 同时培养温度为 28℃。

4) 注射番茄叶片后, 未发现白化苗的现象。一方面可能由于农杆菌失活或者浓度不适宜。另一方面可能是注射的苗太少。基因沉默的成功率不是 100%, 同时基因沉默的效率也有高有低。因此, 需要使用最新培养的农杆菌, 且 OD 值保持在 1.0 左右。同时, 同一批多注射一些植株, 保证能够筛选出基因沉默成功的植株。

3. 实验结果与分析

3.1. 载体构建

以番茄叶片为模板, 获得了高质量的总 RNA, 电泳检测未降解(图 1(A))。然后, 以总 RNA 为模板, 通过逆转录获得 cDNA, 再以 cDNA 为模板, 通过 PCR 获得了 *SIPDS* 基因的 VIGS 片段(图 1(B))。将 *SIPDS* 基因的 VIGS 片段连接到 pTRV2 载体上, 转入大肠杆菌中, 通过菌落 PCR 获得了阳性菌株(图 1(C))。将构建成功的载体转入农杆菌中, 菌落 PCR 结果同样显示 *SIPDS*::pTRV2 已成功转入农杆菌中(图 1(D))。

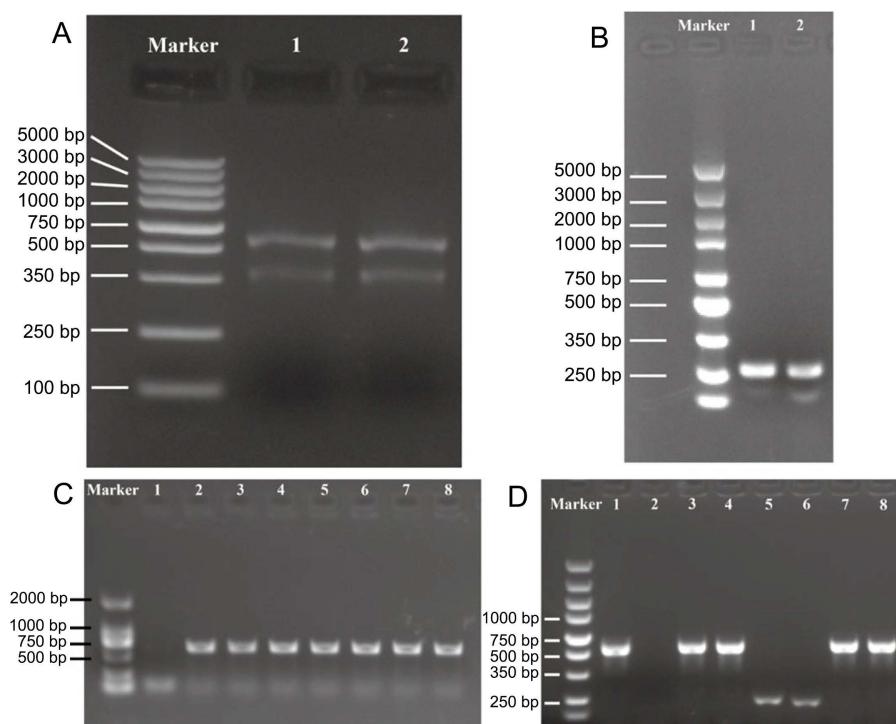


Figure 1. Construction of the VIGS vector for the *SIPDS* gene. (A) RNA extraction. Lanes 1 and 2 both show the RNA bands extracted from tomato leaves. (B) Amplification of the *SIPDS* silencing fragment. Lanes 1 and 2 both show amplified VIGS fragment bands of *SIPDS* gene. (C) Identification of positive *E. coli* colonies. Lane 1 represents the negative control, and lanes 2~8 represent different monoclonal colonies. (D) Identification of positive *Agrobacterium* colonies. Lane 1 represents the negative control, lane 2 represents the positive control, and lanes 3~8 represent different monoclonal colonies. In all figures, Marker represents the molecular weight standard

图 1. *SIPDS* 基因的 VIGS 载体构建过程。(A) RNA 提取。1 和 2 洋道均表示提取的番茄叶片 RNA 条带。(B) *SIPDS* 沉默片段扩增。1 和 2 洋道均表示扩增的 *SIPDS* VIGS 片段条带。(C) 大肠杆菌阳性菌落鉴定。洋道 1 代表阴性对照, 洋道 2~8 代表挑取的不同单克隆菌落。(D) 农杆菌阳性菌落鉴定。洋道 1 代表阴性对照, 洋道 2 代表阳性对照, 洋道 3~8 代表挑取的不同单克隆菌落。所有图中的 Marker 代表分子量标准

3.2. *SIPDS* 基因沉默情况

在侵染幼苗子叶后，发现番茄幼苗在第 20 天出现明显白化表型，主要集中在新长出的真叶部位，而对照组无显著变化(图 2(A))。取白化部位叶片和对照组叶片，定量 PCR 检测 *SIPDS* 基因的表达水平，发现白化部位叶片的 *SIPDS* 基因表达水平显著降低，表明 *SIPDS* 基因表达沉默成功(图 2(B))。

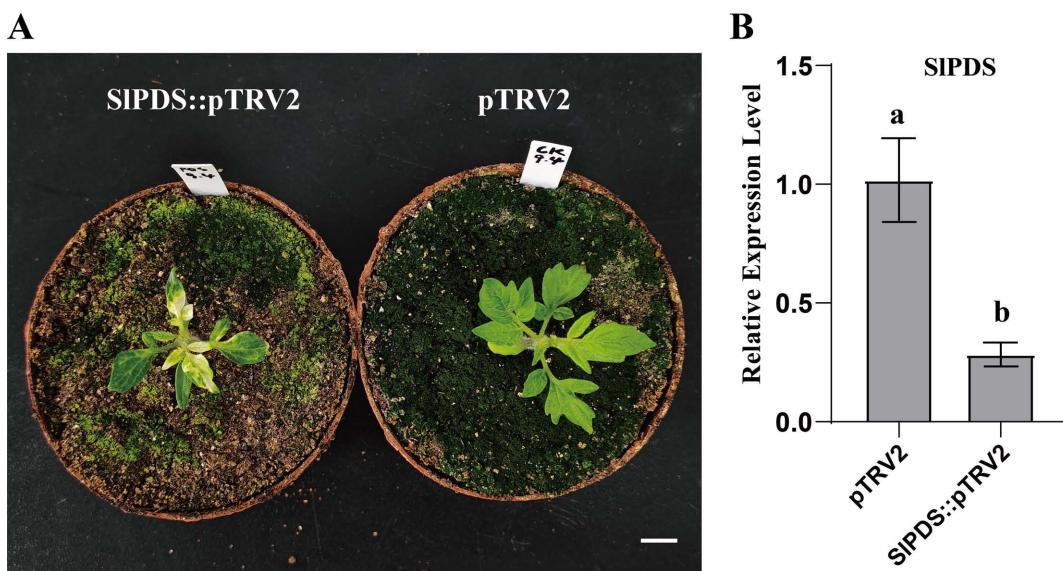


Figure 2. Identification of *SIPDS* gene-silenced plants. (A) Gene silencing phenotype, scale bar represents 1 cm. (B) *SIPDS* gene expression level. All data represent the mean of three biological and technical replicates. Statistical analysis was performed using SPSS 21.0 software with Student's t-test, and different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

图 2. *SIPDS* 基因的沉默植株鉴定。(A) 基因沉默表型，标尺代表 1 cm。(B) *SIPDS* 基因表达水平。所有数据均包含 3 次生物学重复和技术重复。根据 Student's t-test 检验方法，利用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析，不同字母代表 $P < 0.05$

3.3. 实验注意事项

- 1) RNA 提取过程中注意防止 RNA 降解；
- 2) 实验操作要戴手套，做好安全防护；
- 3) 所有废液应统一回收，让学生养成环保意识。

4. 教学预期效果

相较于碎片化的分子生物学实验教学模式，将 VIGS 技术引入实验教学后，分子生物学实验课展现出更强的创新性与前沿性，实验内容兼具理论深度与实践广度，形成了从基因沉默载体构建、农杆菌介导转化，到植物表型观察与基因表达分析的完整科研链条。实验全程以学生自主设计与操作为核心，教师仅在关键节点给予引导，充分激发了学生的主观能动性。实验的每一个环节都紧密相连，如 RNA 提取效果直接影响基因扩增是否成功、进而对后续载体构建产生一系列的影响。当学生观察到叶片白化的表型，并通过定量 PCR 验证了 *SIPDS* 基因的沉默效应时，不仅深刻体会到科研探索的艰辛与喜悦，更建立起对分子生物学研究的浓厚兴趣。通过 VIGS 技术的实践，学生系统掌握了核酸提取、基因扩增、载体构建、瞬时转化、表型观察、基因表达验证等重要的分子生物学技术，接触到电泳成像系统、定量 PCR 仪等专业设备的操作。这种综合性的实验训练，有效提升了学生的科研思维与实践能力，为其未来从事生物基因功能研究、作物遗传改良等生命科学领域的探索筑牢根基。

5. 结语

本研究构建的 VIGS 实验教学体系，将基因功能研究的技术转化为本科实验项目，解决了传统教学中“重技术操作、轻科学思维”的问题。通过真实的科研情境设计(如载体构建中的序列比对、表型分析中的数据统计)，有效提升了学生的综合能力，符合“以学生为中心”的教育理念。VIGS 技术的教学实践为分子生物学实验注入了前沿性和探究性，其成功经验可为其他高校开展基因功能研究类实验提供参考，推动实验教学从技术传授向创新能力培养的深度转型。

但 VIGS 实验教学也存在一定的问题。例如，该实验需要完整的分子生物学相关仪器设备，且需要温室种植番茄植株，而部分高校缺少相应的实验平台。VIGS 实验教学涵盖了核酸提取、基因扩增、载体构建、基因沉默植株获取等完整的实验环节，需要的教学时间长，一旦中途出错就会影响整个实验进展，可能导致无法在学期末实现既定目标。此外，本研究的 VIGS 实验属于植物基因功能研究，适合以植物研究为主的院校开展，但对于微生物、动物等研究并不适用，仍具有一定的局限性。因此，未来仍然需要进一步完善教学内容，根据不同专业进行合理调整，真正实现育人目标。

致 谢

感谢对本研究提供建议和支持的所有人。

基金项目

乐山师范学院高层次人才引进科研启动项目(RC2023005)。

参考文献

- [1] 王燕燕, 薛迎斌, 胡汉桥. “分子生物学实验”教学改革探索[J]. 教育教学论坛, 2025(32): 107-110.
- [2] van Kammen, A. (1997) Virus-induced Gene Silencing in Infected and Transgenic Plants. *Trends in Plant Science*, 2, 409-411. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(97\)01128-x](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)01128-x)
- [3] 任恒泽, 李丹莹, 余亚婷, 吕务云, 郝心愿, 王新超, 王玉春. 植物 VIGS 载体构建策略研究与应用进展[J]. 园艺学报, 2024, 51(7): 1455-1473.
- [4] 郭燕, 刘志达, 康立茹, 包婷婷, 杨旭, 赵君, 张之为. 基于 PDS 基因的番茄 VIGS 高效沉默体系的优化[J]. 作物杂志, 2023(2): 46-50.
- [5] 郝梦媛, 杭琦, 师恭曜. VIGS 基因沉默技术在作物基因功能研究中的应用与展望[J]. 中国农业科技导报, 2022, 24(1): 1-13.
- [6] 侯巧明, 张立, 贺新强, 丁琦. 病毒诱导的基因沉默技术实验教学设计和实践[J]. 实验技术与管理, 2015, 32(9): 191-193.
- [7] 朱峰, 纪兆林, 钱坤. 病毒诱导基因沉默技术引入普通生物学实验教学实践[J]. 生物学杂志, 2020, 37(3): 127-129.
- [8] 钟珉, 覃鸿毅, 柴喜荣, 杨暹, 康云艳. 莱心 VIGS 沉默植株构建的教学实验[J]. 安徽农学通报, 2024, 30(10): 102-106.