

全国临床基因扩增检验实验室
技术人员上岗培训教材

临床基因扩增检验技术

申子瑜 李金明
郑怀竟



人民卫生出版社

全国临床基因扩增检验实验室
技术人员上岗培训教材

临床基因扩增检验技术

主 编 申子瑜 李金明

主 审 郑怀竞

编 者(以姓氏笔画为序)

王露楠(卫生部临床检验中心)

申子瑜(卫生部临床检验中心)

李金明(卫生部临床检验中心)

刘敬忠(首都医科大学朝阳医院)

张 正(北京大学人民医院)

郑怀竞(卫生部临床检验中心)

尚 红(中国医科大学附属第一医院)

陶其敏(北京大学人民医院)

贾弘禔(北京大学医学部)

黄道培(上海浩源生物科技有限公司)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

临床基因扩增检验技术/申子瑜等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2002

ISBN 7-117-05116-7

I. 临... II. 申... III. 基因扩量-医学检验 IV. R446.69

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 065085 号

临床基因扩增检验技术

主 编: 申子瑜 李金明

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

印 刷: 三河市潮河印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 13.5

字 数: 304 千字

版 次: 2002 年 9 月第 1 版 2002 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05116-7/R·5117

定 价: 23.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

自 Mullis 1983 年发明聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 这种核酸扩增技术以来, 作为一个工具, 它已深入到生命科学研究的每一个角落; 作为一个“概念”, 它给从事基因研究的人们以丰富的想像力, 派生出了各种各样的有其独特使用目的的核酸扩增检测技术。

到了 20 世纪 90 年代中期, 国内的临床实验室, 将 PCR 技术广泛地用于感染性病原体如 HBV、HCV、结核杆菌、性病病原体等的临床检测, 但由于缺乏对核酸扩增检验技术完整深入的了解, 以及缺乏相应的质量保证措施, 导致部分实验室检验结果有很大的主观性和随意性, 假阳性和假阴性较为常见。

根据 PCR 等基因扩增检验技术的特点和临床疾病诊断的需要, 经过专家充分的论证, 卫生部于 2002 年 1 月下发了有关基因扩增检验技术临床应用的法规性文件《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》(卫医发[2002]10 号), 文件对临床基因扩增检验实验室的设置、技术验收、人员培训、监督管理等作了全面的规定, 要求从事临床基因扩增检验的技术人员必须经过卫生部临床检验中心或授权的省级培训机构的上岗培训, 持证上岗。人员培训使用统一的教材。本教材正是为这一目的而编写的。其主要内容是, 在复习核酸基础生物化学的基础上, 重点阐述以 PCR 为代表的临床基因扩增检验技术在实际应用中涉及到的标本收集、仪器设备的正确使用和维护、试剂质检、核酸提取、扩增检测、产物分析、结果报告等的质量控制要点, 并纳入实验室质量管理的概念。可以肯定的是, 本教材只是起一个“抛砖引玉”的作用, 具体到某一个特定的基因扩增检验项目, 还需要实验室在实际工作中去探讨和制定科学、合理、高效的质控措施。目的只有一个——保证日常临床基因扩增检验的质量。

由于编者水平有限, 本教材的缺点错误在所难免, 敬请各位专家和同道提出批评指正, 以便再版时更正。

编 者

2002 年 5 月 北京

目 录

第一章 核酸的生物化学	1
第一节 核酸概述	1
一、核酸的发现	1
二、核酸的分类	2
三、核酸的功能	2
第二节 核酸的分子组成	2
一、元素组成	2
二、核酸的基本结构单位——核苷酸	2
第三节 核酸的分子结构	6
一、核酸中核苷酸的连接	6
二、DNA 的分子结构	8
三、RNA 的分子结构	11
第四节 核酸的理化性质	15
一、核酸的酸碱性质	15
二、核酸的高分子性质	16
三、核酸的紫外吸收	16
四、核酸的变性和复性	16
第五节 DNA 的生物合成	18
一、DNA 生物合成的概念	18
二、DNA 的复制合成	18
三、反转录合成	24
四、DNA 的修复合成	25
第六节 RNA 的生物合成	25
一、RNA 生物合成的概念	25
二、转录体系的组成	26
三、转录过程	28
四、转录后加工过程	28
第二章 基因扩增及其相关检测技术	34
第一节 PCR 的基本原理	34
第二节 PCR 反应的基本条件及其对 PCR 的影响	36
一、模板核酸	36

二、引物	36
三、缓冲液	36
四、 Mg^{2+}	36
五、三磷酸脱氧核苷酸(dNTP)	36
六、耐热 DNA 聚合酶	36
七、温度和循环参数	37
第三节 PCR 扩增产物的分析法	37
一、凝胶电泳分析法	38
二、点杂交	38
三、微孔板夹心杂交法	38
四、PCR-ELISA 法	38
五、荧光探针标记法	38
第四节 PCR 反应相关检测技术	38
一、原位 PCR 技术	39
二、标记 PCR 和彩色 PCR	39
三、反向 PCR	39
四、不对称 PCR	40
五、多重 PCR	40
第五节 其它基因扩增检验技术	40
一、连接酶链反应	40
二、依赖核酸序列的扩增	41
三、转录依赖的扩增系统	41
四、Q β 复制酶反应	42
五、bDNA	42
第三章 聚合酶链反应测定的技术要点	45
第一节 PCR 技术	45
一、PCR 实验包括的步骤	45
二、影响 PCR 结果的因素	45
第二节 PCR 的应用	46
一、在感染疾病中的应用	47
二、PCR 在诊断病原体感染时的优缺点	47
第三节 PCR 假阳性或假阴性的预防和对策	47
一、对产物污染的预防	47
二、对于交叉污染、培养物及其它污染的预防应采取综合性防范措施	49
三、出现污染现象后的措施	49
四、假阴性的预防及对策	49
第四节 实验设备及试剂的规范化和标准化	49
一、实验室设置及设备的规范化	49

二、实验试剂的标准化	49
三、操作人员的要求	50
第四章 临床基因扩增检验实验室的设置、质量管理体系的建立及其技术验收	52
第一节 临床标本的接收	52
第二节 基因扩增检验实验室设置的一般要求及工作流程	52
一、试剂准备区	53
二、标本制备区	53
三、扩增区	54
四、产物分析区	54
第三节 有关临床基因扩增检验实验室技术验收有关问题的解释	55
一、实验室设置和设备	55
二、设施和环境	55
三、人员	55
四、设备管理和质控物	56
五、检测方法	56
六、标本管理	56
七、记录	56
八、报告	56
九、质量控制	56
十、抱怨	57
十一、其它有关技术验收的内容	57
第四节 临床基因扩增检验实验室如何准备技术验收	57
第五章 临床基因扩增检验标本的处理、保存及核酸提取方法	66
第一节 临床标本的处理和保存	66
一、血清(浆)标本	66
二、全血标本	66
三、外周血单个核细胞	67
四、痰	67
五、棉拭子	67
六、脓液	67
七、体液	67
八、组织	67
第二节 核酸的提取方法	68
一、DNA 提取的经典方法	68
二、RNA 的提取	69
三、核酸提取的改良方法	71

第六章 PCR 测定的临床应用及测定结果的临床意义	78
第一节 关于结核分枝杆菌等几项检测的具体应用	78
一、结核分枝杆菌(TB)	78
二、沙眼衣原体(Ct)	79
三、HBV - DNA	80
四、HCV - RNA	81
五、人类组织相容性抗原(HLA)	81
第二节 遗传病检测	82
一、PCR 结合等位基因特异性寡核苷酸(ASO)探针法	82
二、PCR 扩增特异等位基因(PASA)	83
三、限制性片段长度多态性分析(PCR - RFLP)	83
四、单链构象多态分析(PCR - SSCP)	83
第三节 肿瘤研究中的分子生物学检测	83
第四节 临床应用评价应注意的共同问题	84
一、假阳性和假阴性	84
二、阳性率与“金标准”	84
三、临床实践是判断 PCR 结果的最重要依据	84
第七章 基因扩增检验技术在遗传病诊断及基因配型中的应用	88
第一节 基因扩增检验技术在遗传病诊断中的应用	88
一、基因探针技术的应用	88
二、PCR 技术及其在遗传病基因诊断中的应用	88
三、无创产前基因诊断技术	91
四、生物芯片技术	91
五、展望	91
第二节 PCR 技术在 HLA - DRB1 基因配型中的应用	92
第八章 定量聚合酶链反应测定技术及其临床应用	98
第一节 PCR 扩增的理论模式	98
第二节 定量 PCR 方法	98
一、使用外标准的定量 PCR 方法	99
二、动力学方法	99
三、内标定量方法	100
第三节 定量 PCR 测定的临床应用及应注意的问题	101
第九章 临床基因扩增检验实验室常用仪器设备	105
第一节 PCR 热循环仪(DNA 扩增仪)	105
一、PCR 扩增仪的原理及发展状况	105
二、PCR 扩增仪的使用与保养	109

三、国内常见荧光定量 PCR 仪介绍	110
第二节 高速/冷冻离心机	111
一、使用方法	112
二、注意事项	112
三、维护和保养	113
四、几种高速离心机性能介绍	113
第三节 加样器(移液器)	114
一、加样器的类型	114
二、加样器的技术指标	115
三、加样器的使用	116
四、加样器的性能测试	119
五、加样器的校准——加样器校准标准操作程序(SOP)	119
六、注意事项	121
七、维护	122
八、故障排除	122
第四节 洗板机	122
一、洗板机机理的研究	123
二、洗板机的发展状况	123
三、国内常见洗板机简介	123
四、选购洗板机的注意事项	124
五、洗板机使用中的注意事项	125
 第十章 PCR 热循环式核酸扩增仪	 128
第一节 简介	128
第二节 核酸扩增反应仪	128
一、PCR 仪的由来和发展	128
二、选用 PCR 仪的标准	129
三、选用优化的 PCR 程序的重要性	130
四、如何测定热循环仪孔与孔之间的差别	131
五、使用热循环仪的几个基本注意要点	132
 第十一章 临床基因扩增检验的质量保证	 136
第一节 定义	136
一、质量保证(Quality Assurance, QA)	136
二、室内质量控制(Internal Quality Control, IQC)	136
三、室间质量评价(External Quality Assessment, EQA)	136
四、准确度(Accuracy)	136
五、偏差(Bias)	136
六、精密度(Precision)	136

七、重复性条件(Repeatability Conditions)	137
八、批(Run)	137
九、均值(Mean)	137
十、标准差(Standard Deviation, SD 或 s)	137
十一、变异系数(Coefficient of Variation, CV)	137
十二、正态分布(Gaussian Distribution)	137
第二节 质量保证、室内质控和室间质评之间的关系	138
第三节 标本收集、运送、保存及其质量控制	139
一、标本收集	139
二、标本保存	140
三、标本运送	140
第四节 室内质量控制(IQC)	140
一、测定前质量控制	141
二、核酸样本的制备、扩增检测及其质量控制	143
三、统计学质量控制	145
四、室内质控数据的评价	155
五、室内质控的局限性	155
第五节 室间质量评价(EQA)	155
一、EQA 的程序设计	155
二、EQA 的局限性	160
第十二章 临床聚合酶链反应试剂盒的选用和质检	164
第一节 PCR 或 RT-PCR 试剂盒的组成	164
第二节 影响 PCR 试剂盒质量的因素	164
一、核酸提取方法	164
二、核酸扩增所需的原材料	165
三、核酸扩增方法	165
四、产物检测	166
五、试剂盒的运输和贮存	166
第三节 临床 PCR 试剂盒的分类	166
第四节 临床 PCR 试剂盒的选用原则	166
第五节 临床 PCR 试剂盒的质检	167
一、内、外包装的质检	167
二、试剂盒测定性能的质检	167
第十三章 临床基因扩增检验技术的进展	171
第一节 探针杂交技术	171
一、荧光探针标记技术	171
二、酶标记探针杂交技术	172

第二节	UNG 防污染技术·····	172
第三节	其它相关技术·····	173
一、	内标准技术·····	173
二、	核酸提取的标准化和自动化技术·····	173
第十四章	《临床基因扩增检验实验室管理暂行办法》的解释说明·····	176
第一节	《办法》管辖的基因扩增检验方法·····	176
第二节	临床基因扩增检验项目的申报和审定·····	177
第三节	实验室设置审批·····	177
第四节	实验室工作人员的资格和培训单位的审定·····	177
第五节	对违反本办法的医疗机构和实验室的处罚·····	178
第六节	实验室的监督管理单位·····	178
附录 1	临床基因扩增检验实验室管理暂行办法·····	180
	临床基因扩增检验实验室基本设置标准·····	183
附录 2	临床基因扩增检验实验室工作规范·····	185
附录 3	临床基因扩增检验实验室技术验收申请表·····	192
附录 4	临床基因扩增检验实验室技术验收报告·····	194

第一章 核酸的生物化学

核酸是一类生物信息高分子化合物。核酸自它首次被从细胞中分离出来,经历了大约 100 年的历史,直至 20 世纪中期以后科学家们对核酸结构和功能的认识才取得了飞跃的发展。1953 年 Watson 和 Crick 提出了脱氧核糖核酸(DNA)双螺旋结构模型,极大地推动了核酸生物化学、分子生物学及分子遗传学等各类生命学科的发展。这些学科的发展为未来医学和工农业产业革命奠定了基础。例如,近年来迅速兴起的分子生物学及其领域内的各项技术,如基因工程等正是在现代生物化学(核酸和蛋白质结构与功能研究)基础上发生和发展的。分子生物学的崛起为人类揭示生命现象的本质、健康与疾病的关系,为未来分子医学和工农业生产的发展提供了崭新的技术手段,并为生物技术产业发展开辟了新的领域。

在认识核酸化学结构的基础上,学习遗传信息传递的基本知识具有重要意义。DNA 是遗传的重要物质基础,DNA 分子经 DNA 复制将亲代 DNA 的遗传信息传递给子代 DNA;以 DNA 分子为模板、经 RNA 转录将 DNA 的遗传信息抄录到 mRNA 分子中;继而以 mRNA 为模板进行蛋白质翻译时,mRNA 分子中的核苷酸序列又决定着合成蛋白质的氨基酸的序列。通过转录和翻译,基因的遗传信息从 DNA 传递给蛋白质,蛋白质决定遗传表型。这就是基因表达。基因表达是在复杂机制控制下进行的,基因表达调控已成为当前生命科学研究的热门领域。由于篇幅所限,本章只介绍与核酸生物化学直接相关的内容,包括核酸的化学结构及其合成代谢(复制和转录),关于蛋白质翻译及基因表达调控内容不在此讨论。

第一节 核酸概述

一、核酸的发现

1869 年瑞士青年学者 Friedrich Miescher 首次从脓细胞核中分离出一种含磷化合物,并命名为“核素”(nuclein)。后来证明“核素”属酸性化合物,故更名为“核酸”(nucleic acid)。20 世纪头十年研究揭示,核酸和蛋白质一样也是多聚化合物,核苷酸(nucleotide)是组成核酸的单体。因此,核酸又称为多聚核苷酸(polynucleotide)。核酸是动物细胞、植物细胞和微生物细胞的共同组成成分,甚至比单细胞还小的病毒颗粒都含有核酸。在真核生物中,核酸在细胞核和细胞质共同存在。以前认为,细胞间质或细胞外液中没有核酸存在,但近来研究发现细胞外液(包括血浆)也有少量寡聚核苷酸存在。无论是存在于真核还是原核细胞中的核酸,只有小部分以游离状态存在,大部分与蛋白质或氨基酸结合成复合物;至于无细胞结构的病毒,则是由核酸和蛋白质组成的核蛋白颗粒。只是病毒不

同,所含核酸不同。

二、核酸的分类

核酸可分为脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)和核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)两类。以前,人们一直认为 DNA 和 RNA 分别属于动物和植物;直至 20 世纪 40 年代发现两类核酸在动物和植物体内都有存在。一种病毒或含 DNA、或含 RNA,故有 DNA 病毒和 RNA 病毒之分。在真核细胞,98% 以上的 DNA 与组蛋白组成染色质,存在于细胞核,细胞质内的 DNA 主要存在于线粒体中。RNA 则仅 10% 存在于细胞核,90% 存在于细胞质中。根据分子结构和功能不同,RNA 又可分为核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)、信使 RNA(messenger RNA, mRNA)和转运 RNA(transfer RNA, tRNA)三种主要类型和其它种类 RNA(如小核 RNA)。

在化学结构上,两类核酸都含有磷酸、戊糖和碱基。DNA 与 RNA 的主要区别就在于:DNA 所含的戊糖成分为 2—脱氧核糖(2—deoxyribose, dR),而 RNA 为核糖(ribose, R);在碱基成分中,DNA 含胸腺嘧啶(thymine, T),而 RNA 含尿嘧啶(uracil, U)。但后一区别并不是绝对的,例如, tRNA 中也含有少量 T。

三、核酸的功能

遗传是生物界的普遍现象和生命的基本特征之一。继 20 世纪 30 年代 Frederick Griffith 发现“转化”现象,1944 年 Oswald Avery 及其同事首次证明,基因(gene)就是由只有转化功能的 DNA 组成。1952 年,Alfred Hershey 和 Martha Chase 采用同位素示踪技术直接证明了 Avery 等的发现——DNA 是遗传的物质基础。DNA 在 RNA 和蛋白质分子的参与下,将储存的遗传信息复制、传递给子代,这就是“种瓜得瓜,种豆得豆”的道理。因此,核酸与生物的生长和发育、遗传和变异有密切的关系。核酸与蛋白质一样,同是生命的重要物质基础。

第二节 核酸的分子组成

一、元素组成

核酸(DNA 和 RNA)分子除含有 C、H、O、N 四种元素外,还含有大量 P, P 的含量约为 9% ~ 10%。由于各种核酸分子中 P 的含量比较接近或恒定,故在测定组织中的核酸含量时通过测定 P 的含量来计算生物组织核酸的含量。

二、核酸的基本结构单位——核苷酸

将核酸逐步水解,可得到多种产物。首先得到的是单核苷酸(nucleotide),后者可进一步水解成核苷(nucleoside)和磷酸,核苷还可水解成戊糖(核糖和脱氧核糖)和含氮碱(嘌呤碱和嘧啶碱)基。现将两类核酸水解的主要最终产物列于下表:

表 1-1 核酸水解后的主要最终产物

	RNA	DNA
磷酸	磷酸(P)	磷酸(P)
戊糖	D-核糖(R)	D-2-脱氧核糖(dR)
碱基	腺嘌呤(A)	腺嘌呤(A)
	鸟嘌呤(G)	鸟嘌呤(G)
	胞嘧啶(C)	胞嘧啶(C)
	尿嘧啶(U)	胸腺嘧啶(T)

(一) 含氮碱

核酸分子中的碱基为嘌呤碱(purine)和嘧啶碱(pyrimidine)的衍生物。核酸分子中的嘌呤碱主要是腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G)两种。核酸中的嘧啶碱主要是胞嘧啶(cytosine, C)、尿嘧啶(uracil, U)和胸腺嘧啶(thymine, T)三种。T主要存在于 DNA 分子中, U 则只存在于 RNA 分子中。两类核酸所含的嘌呤类和嘧啶类化合物的结构式及数字标号如图 1-1 所示。

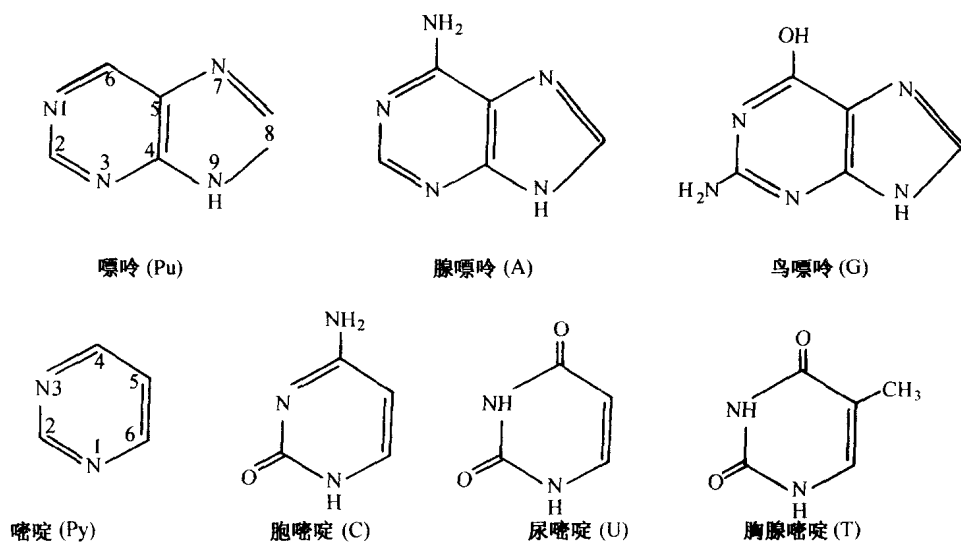


图 1-1 嘌呤类和嘧啶类化合物结构式

嘌呤和嘧啶均可发生酮—醇式互变异构现象,生理 pH 环境下以酮式为主。两类碱基中均含有共轭双键,故对 250~280nm 紫外线有较强的吸收作用,在 260nm 吸收最强。

核酸分子中除常见的 A、G、C、U 和 T 等碱基外,在某些 RNA 分子、特别是 tRNA 中还含有少量其它碱基,称为“稀有碱基”或“微量碱基”,如甲基腺嘌呤、甲基鸟嘌呤、黄嘌呤、次黄嘌呤和二氢尿嘧啶等(图 1-1)。

(二) 戊糖类

核酸中的戊糖有两类,即 D-核糖和 D-2-脱氧核糖。D-核糖存在于 RNA 中, D-2-脱氧核糖存在于 DNA 中。两种核糖的结构式及其碳原子编号如图 1-2 所示。

(三) 核苷

碱基与戊糖缩合后生成的化合物称核苷。嘌呤 N-9 与核糖 C-1', 以糖苷键相连,

形成嘌呤核苷,如腺嘌呤核苷(adenosine, AR)和鸟嘌呤核苷(guanosine, GR)。嘧啶 N—1 与核糖 C—1', 以糖苷键相连,形成嘧啶核苷,如尿嘧啶核苷(uridine, UR)和胞嘧啶核苷(cytidine, CR)。嘌呤或嘧啶在同样部位、同样方式与脱氧核糖以 N—C 糖苷键连接形成各种脱氧核苷,如脱氧腺苷(deoxyadenosine, AdR)和脱氧胸苷(deoxythymidine, TdR)等。图 1-3 是部分核苷的结构。

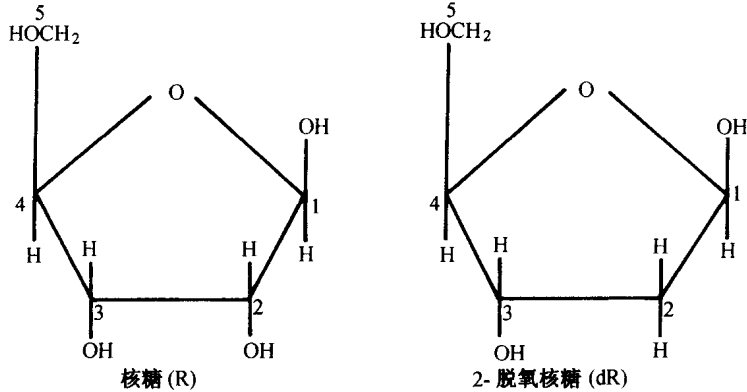


图 1-2 两种核糖结构式

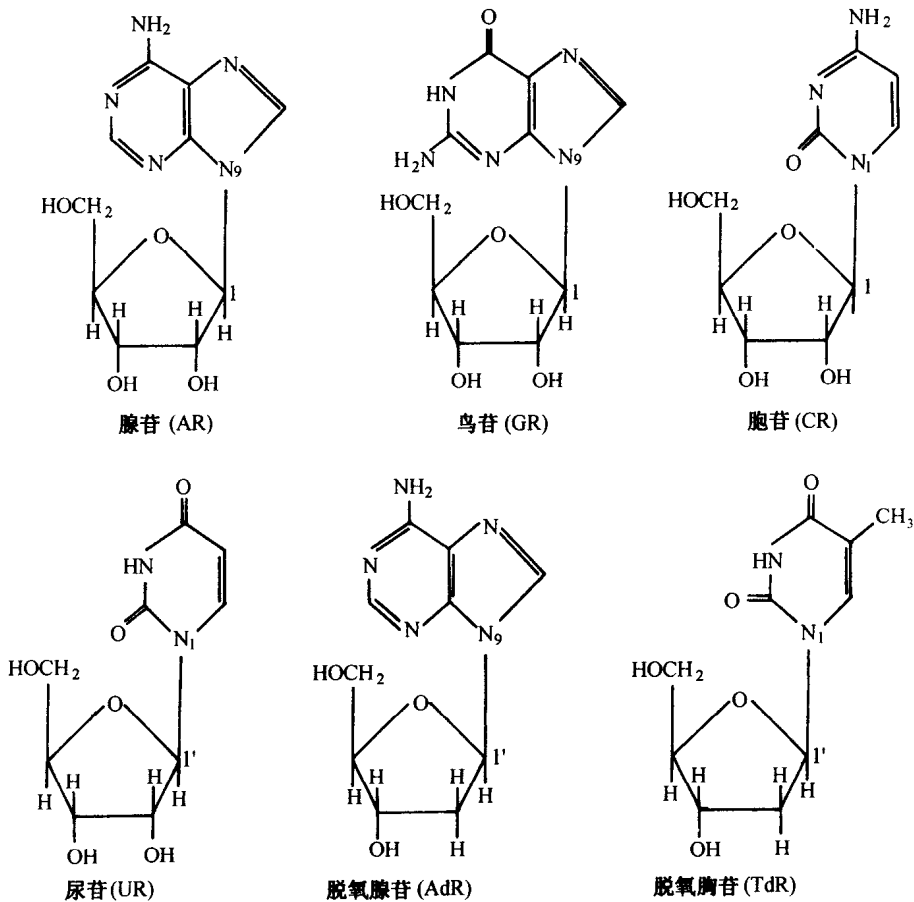


图 1-3 部分核苷结构

由“稀有碱基”形成的核苷称“稀有核苷”，如次黄嘌呤核苷等。还有一种假尿嘧啶核苷 (pseudouridine, Φ) 是尿嘧啶 C—5 与核糖 C—1', 以 C—C 糖苷键连接而成。

(四) 核苷酸

核苷分子小核糖的羟基与一分子磷酸以酯键相连形成的化合物为核苷酸 (nucleotide)。核糖核苷的戊糖有三个游离羟基, 可形成三种核苷酸: 2'—3'—和 5'—核糖核苷酸。脱氧核糖核苷的戊糖只有两个游离羟基, 只能形成两种核苷酸: 3'—和 5'—脱氧核糖核苷酸。在生物体内核酸分子中的核苷酸都是 5'—核苷酸。现择几种核苷酸的结构式列于图 1—4。

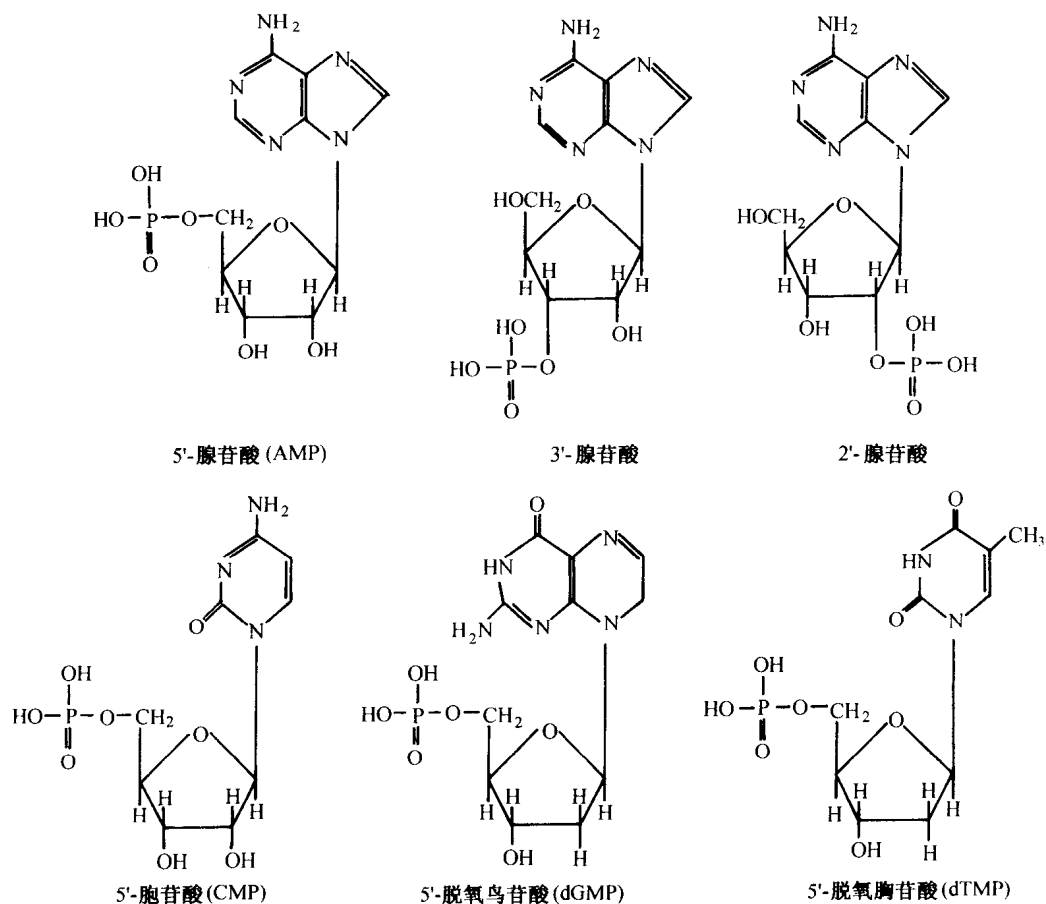


图 1—4 2'—、3'—和 5'—核苷酸结构式

5'核苷酸组成方式为碱基—核糖—磷酸, 称一磷酸核苷或核苷—磷酸 (nucleoside monophosphate, NMP), 如一磷酸腺苷 (AMP)、一磷酸鸟苷 (GMP)、一磷酸胞苷 (CMP) 和一磷酸尿苷 (UMP) 等。如果 5'—核苷酸中的戊糖被脱氧核糖取代, 组成方式为碱基—脱氧核糖—磷酸, 那么在核苷酸命名时在核苷名称前面加上“脱氧”二字, 如一磷酸脱氧腺苷 (dAMP)、一磷酸脱氧鸟苷 (dGMP)、一磷酸脱氧胞苷 (dCMP) 和一磷酸(脱氧)胸苷 (dTMP 或 TMP)。核糖核苷酸呈构成 RNA 的基本单位, 脱氧核糖核苷酸是构成 DNA 的基本单位。

一磷酸核苷除组成核酸外, 在体内也有以游离形式存在的。此外, 体内还有多磷酸核

苷酸,如二磷酸核苷(NDP)和二磷酸脱氧核苷(dNDP),三磷酸核苷(NTP)和三磷酸脱氧核苷(dNTP)。现以腺苷和脱氧腺苷为例,表示其多磷酸化合物结构如图 1-5 所示。

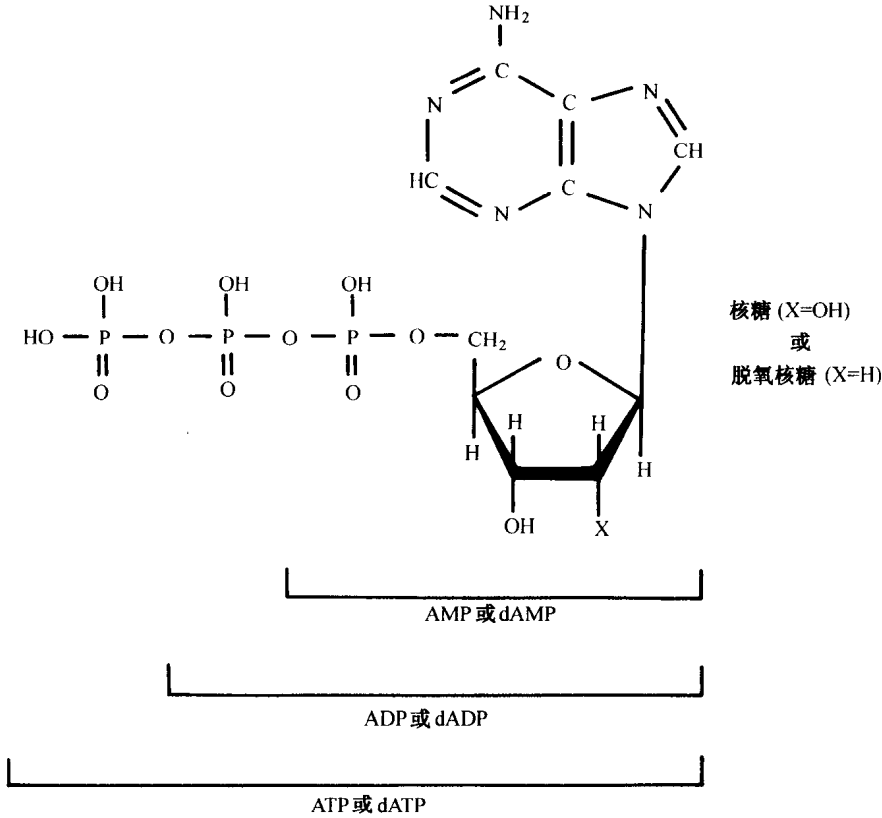


图 1-5 腺苷或脱氧腺苷一磷酸、二磷酸和三磷酸化合物结构式

多核苷酸化合物在体内参与核酸合成和能量代谢,具有重要生理意义。除上述核苷酸,体内还有其它形式的核苷酸,这里不多叙述。

第三节 核酸的分子结构

一、核酸中核苷酸的连接

单核苷酸通过 3'、5' 磷酸二酯键,即一个单核苷酸的戊糖 C-5' 上的磷酸以磷脂键与另一核苷酸戊糖的 C-3' 相连,形成多聚核苷酸链(polynucleotide),其结构如图 1-6 所示。

在多聚核苷酸链中,链的骨架由戊糖基和磷酸基构成。核苷酸链一端核苷酸戊糖的 5' 磷酸不再与其它核苷酸相连,称为 5' 磷酸端,或 5' 末端。同样,核苷酸链另一端的核苷酸戊糖 3' 羟基也是游离的,称为 3' 羟基端,或 3' 末端。因此,核苷酸链是有方向性的。DNA 分子是由方向相反、碱基互补的两条多核苷酸链组成,RNA 分子则是由一条多核苷酸链组成,因此,核酸分子也是有方向性的。