

RNA- und DNA-Strukturen

Strukturelle Bioinformatik WS15/16

Dr. Stefan Simm, 02.12.2015
simm@bio.uni-frankfurt.de

RNA- und DNA-Strukturen

DNA

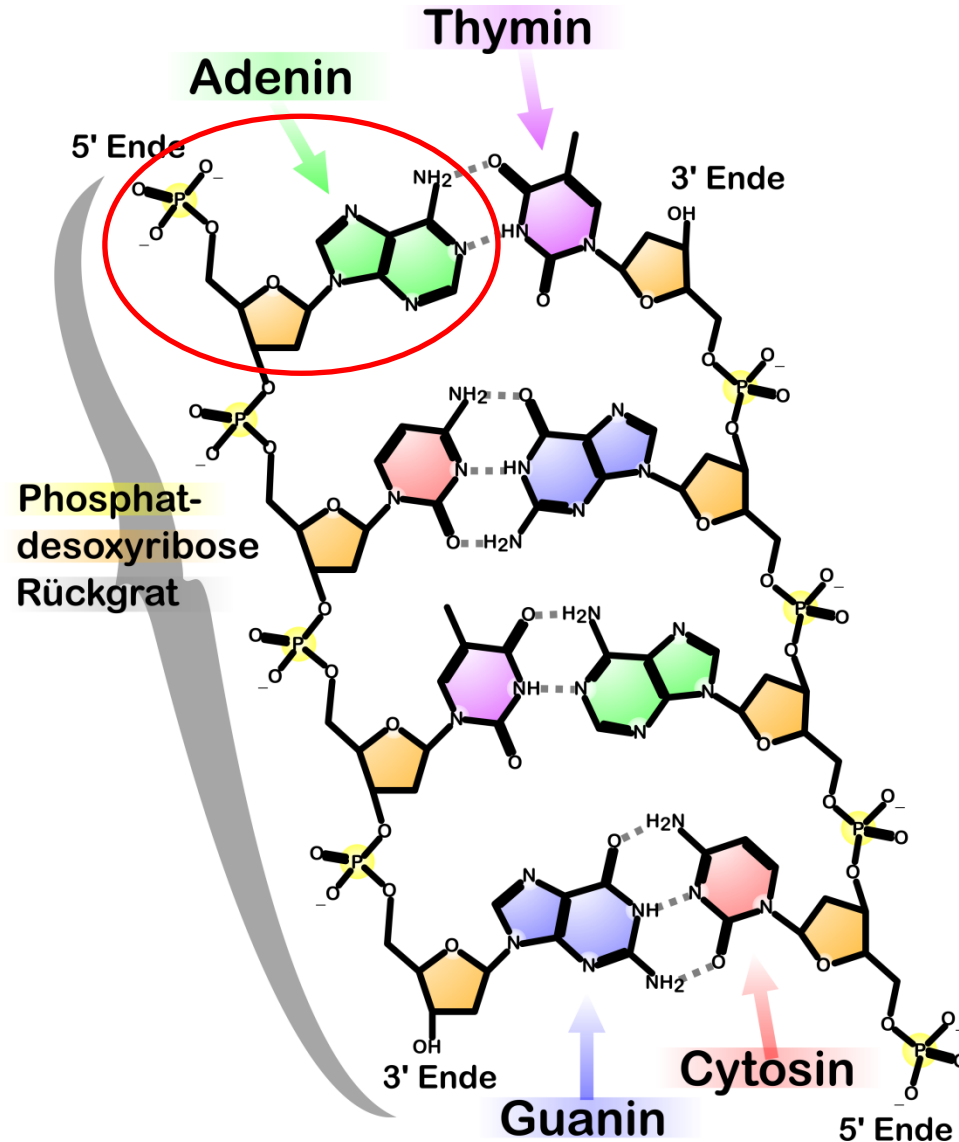
Historie der DNA

- Friedrich Miescher (1869)
 - entdeckte in einem Extrakt aus Eiter eine aus dem Zellkern der Lymphozyten stammende Substanz, die er **Nuklein** nannte
- Phoebus Levene (1919)
 - identifizierte die Bestandteile der DNA (Base, Zucker, Phosphatrest)
 - Levene schlug eine kettenartige Struktur vor, in der die Nukleotide durch Phosphatreste zusammengefügt sind und sich ständig wiederholen
- William Astbury (1937)
 - Röntgenbeugungsmuster wiesen auf repetitive Struktur hin
- Oswald Avery (1944)
 - zeigte mittels 2 verschiedener Pneumokokken-Stämme, daß die DNA Träger der Erbinformation ist

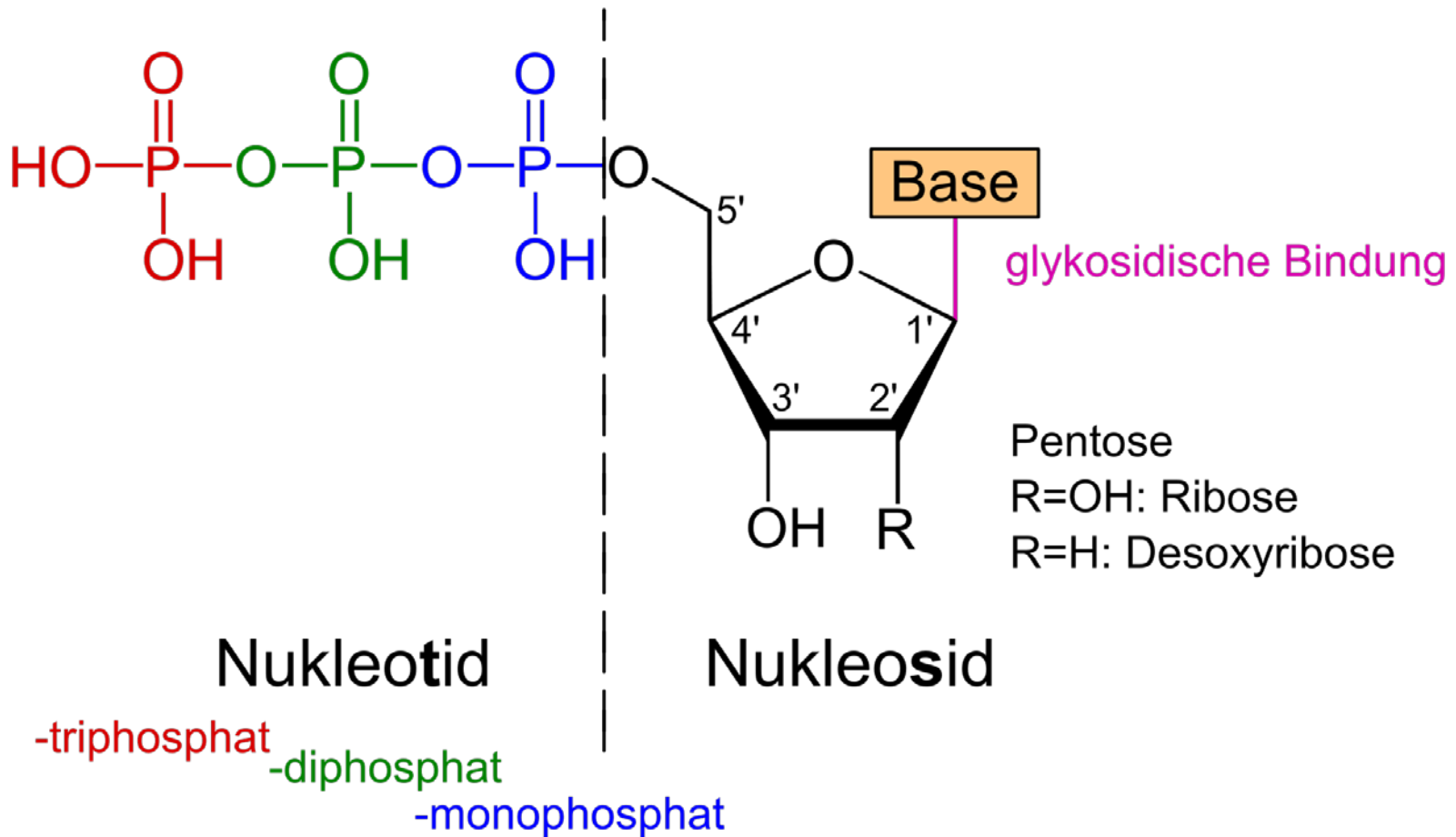
Historie der DNA

- Hershey und Chase (1951)
 - DNA ist Erbinformation des T2-Phagen
 - Averys Hypothese wurde generell akzeptiert
- Watson und Crick (1953)
 - DNA ist eine Doppelhelix

Chemische Struktur der DNA



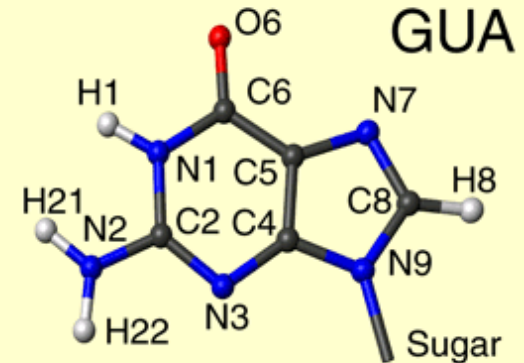
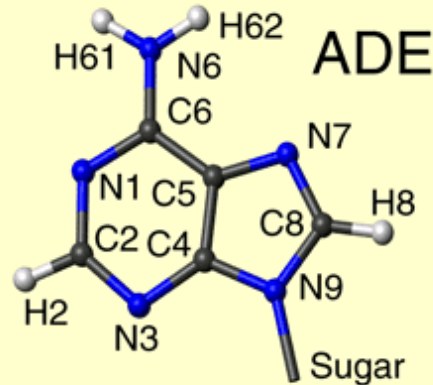
Chemische Struktur der DNA



Nomenklatur der Basen

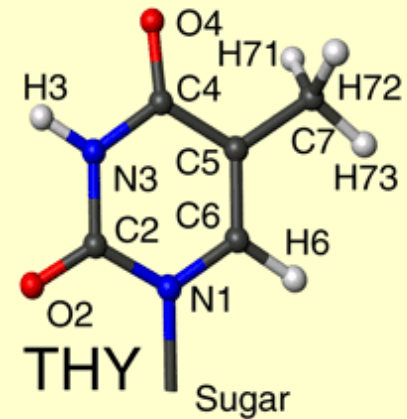
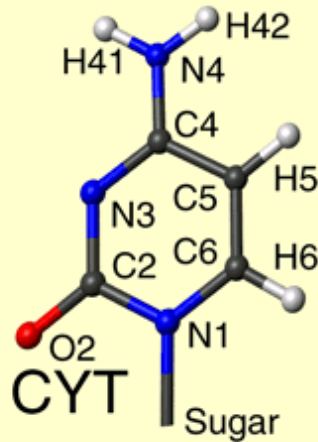
Purine

verbundene 5-Ring
und 6-Ring Strukturen

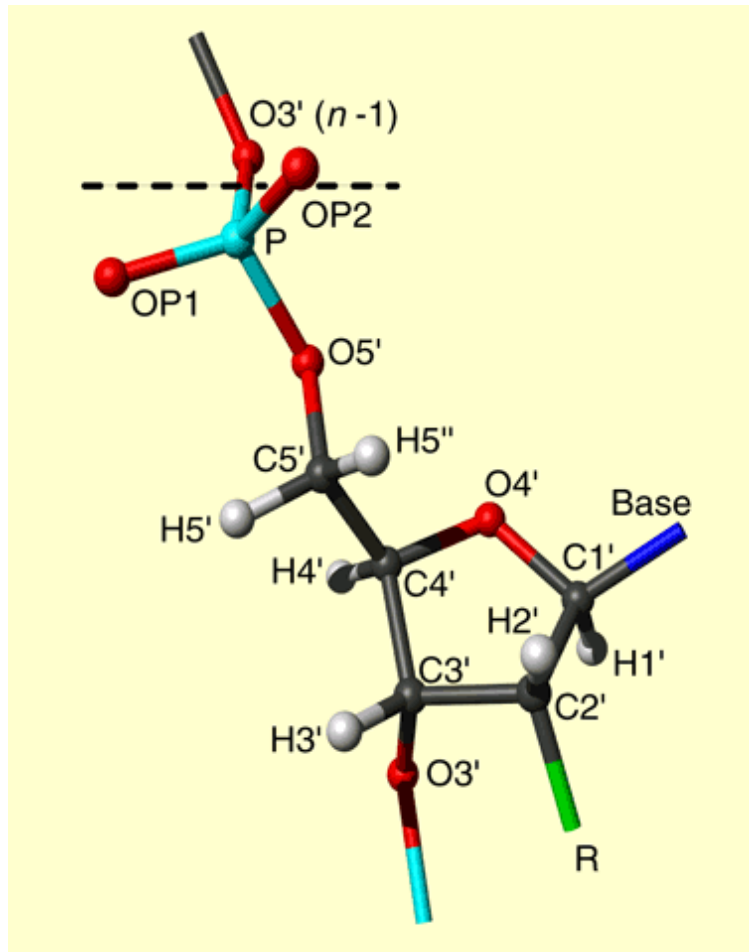


Pyrimidine

6-Ring Strukturen



Nomenklatur der Pentose



Desoxyribose (DNA)

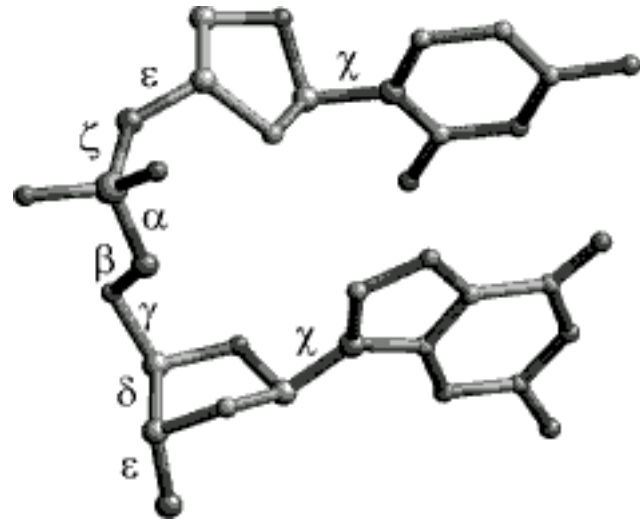
$R = H2''$

Ribose (RNA)

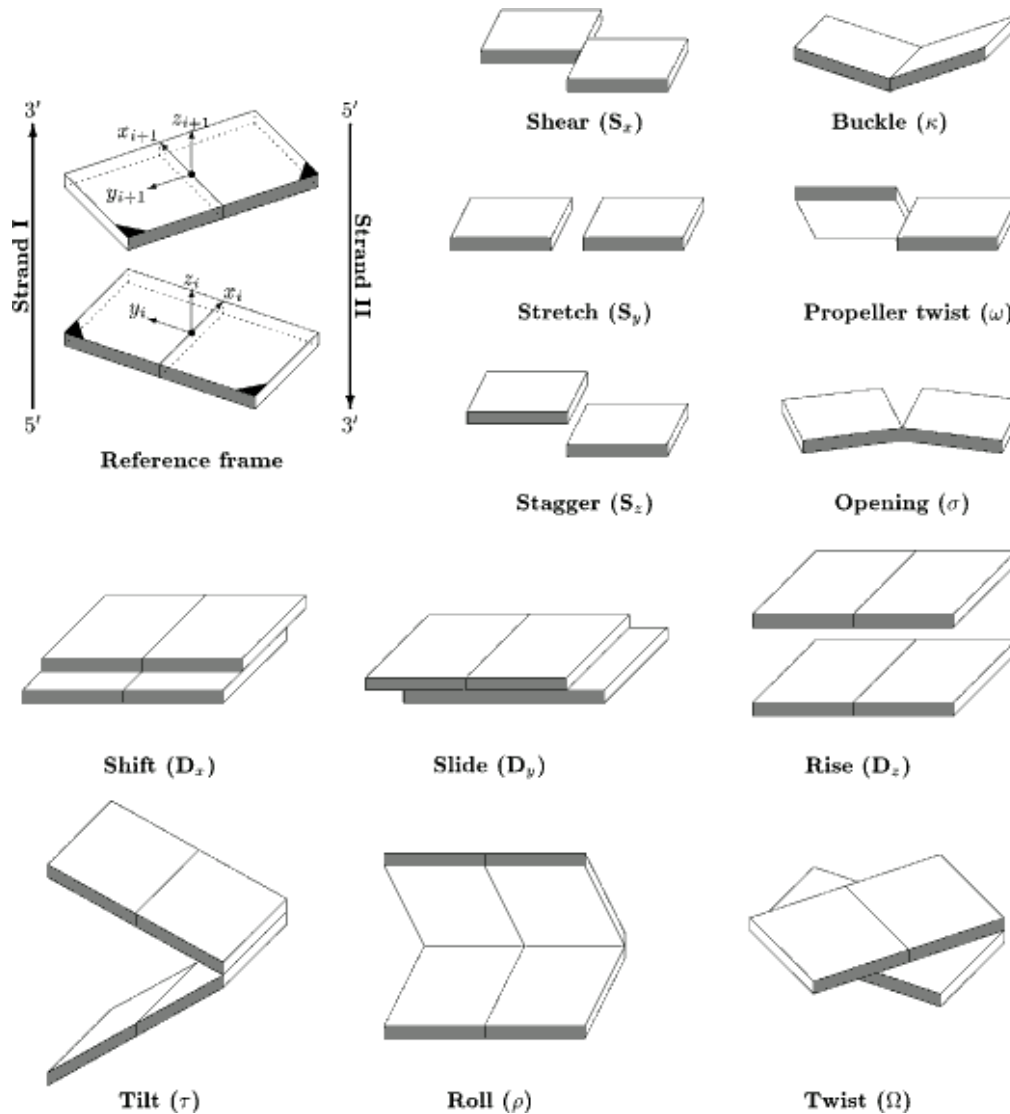
$R = O2' - HO2'$

Nomenklatur der Torsionswinkel der DNA

- Rückgrat:
 - $\alpha = \text{O}3' - \text{P} - \text{O}5' - \text{C}5$
 - $\beta = \text{P} - \text{O}5' - \text{C}5' - \text{C}4'$
 - $\gamma = \text{O}5' - \text{C}5' - \text{C}4' - \text{C}3'$
 - $\delta = \text{C}5' - \text{C}4' - \text{C}3' - \text{O}3'$
 - $\varepsilon = \text{C}4' - \text{C}3' - \text{O}3' - \text{P}$
 - $\zeta = \text{C}3' - \text{O}3' - \text{P} - \text{O}5'$
- glykosidische Bindung:
 - $\chi = \text{O}4' - \text{C}1' - \text{N}1 - \text{C}2$
(Pyrimidine)
 - $\chi = \text{O}4' - \text{C}1' - \text{N}9 - \text{C}4$ (Purine)



Geometrie komplementärer und aufeinander folgender Basenpaare

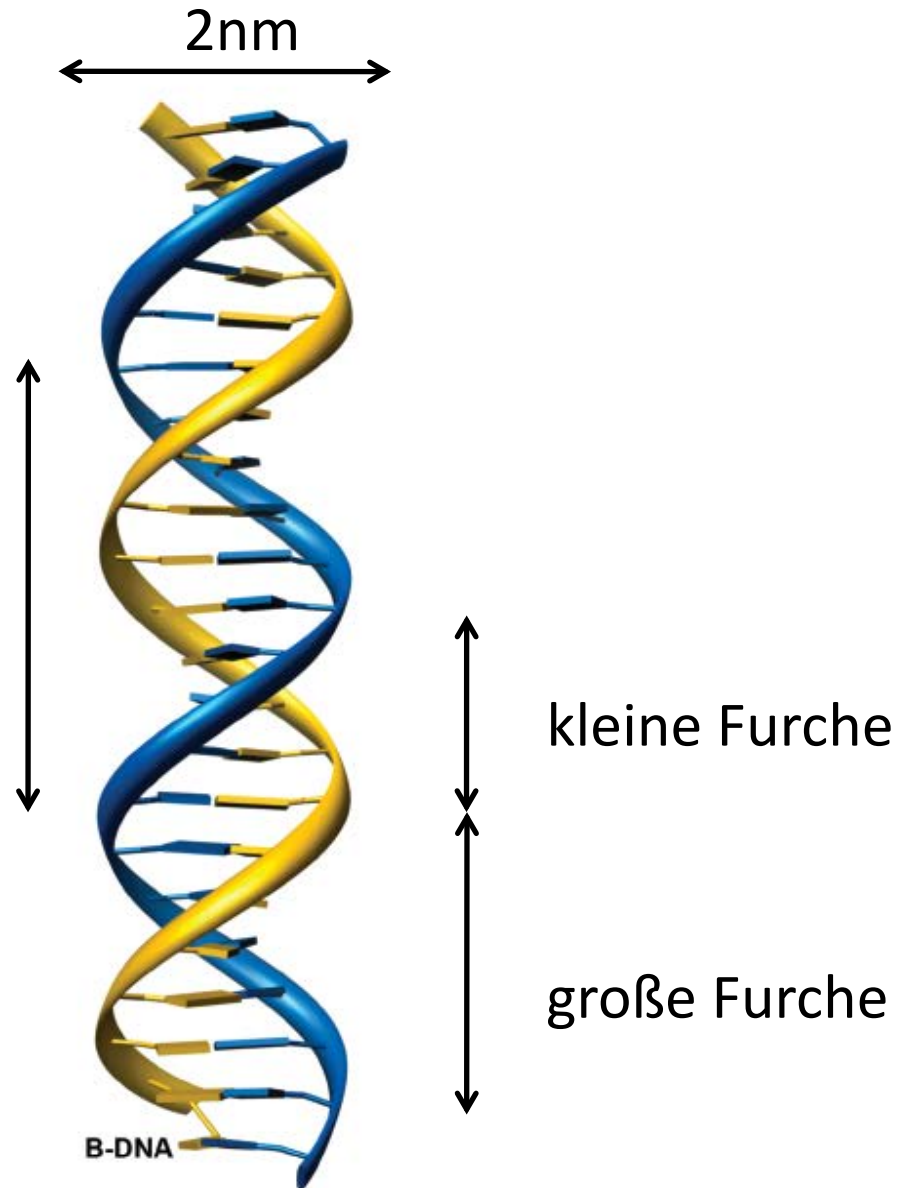


Strukturen der DNA



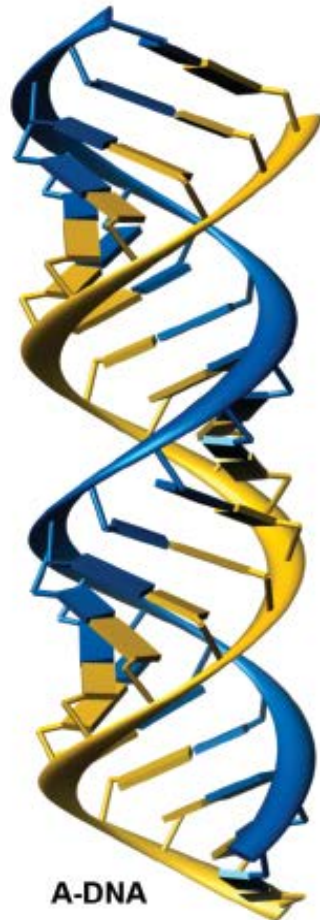
<http://www.alamy.com/search-results.asp?qt=Friedrich+Saurer+Science+Cartoon&npgs=7>

1 Windung
= 10 Basenpaare
= 3,4nm



Strukturen der DNA

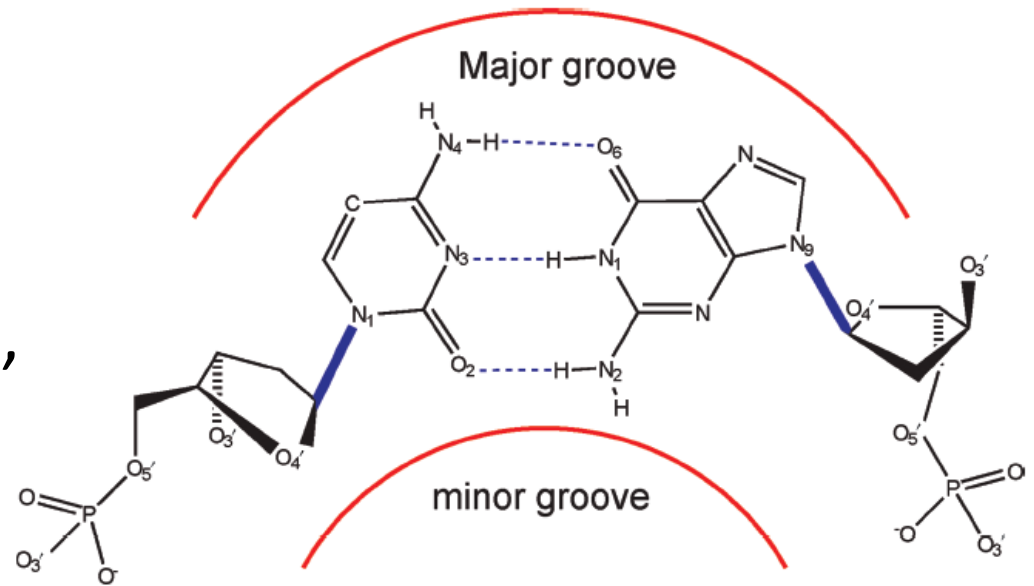
alle diese Doppelhelices sind
aus 22 Basenpaaren aufgebaut



Strukturmerkmal	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
helikaler Drehsinn	rechts	rechts	links
Durchmesser	~2,6 nm	~2,0 nm	~1,8 nm
Basenpaare pro helikale Windung	11.6	10.0	12 (6 Dimere)
Helikale Windung je Basenpaar (twist)	31°	36°	60° (pro Dimer)
Ganghöhe (Anstieg pro Windung)	3,4 nm	3,4 nm	4,4 nm
Anstieg pro Base	0,29 nm	0,34 nm	0,74 nm (pro Dimer)
Neigungswinkel der Basenpaare zur Achse	20°	6°	7°
Große Furche	eng und tief	breit und tief	flach
Kleine Furche	breit und flach	eng und tief	eng und tief
Zuckerkonformation	C3'- <i>endo</i>	C2'- <i>endo</i>	Pyrimidine: C2'- <i>endo</i> Purine: C3'- <i>endo</i>
Glykosidische Bindung	anti	anti	Pyrimidine: anti Purine: syn

große / kleine Furche

- Kanten der Basen sind in der großen Furche zugänglicher als in der kleinen
- daher binden z.B. Transkriptionsfaktoren, die eine spezifische Sequenz erkennen, i.d.R. an die Basen der großen Furche



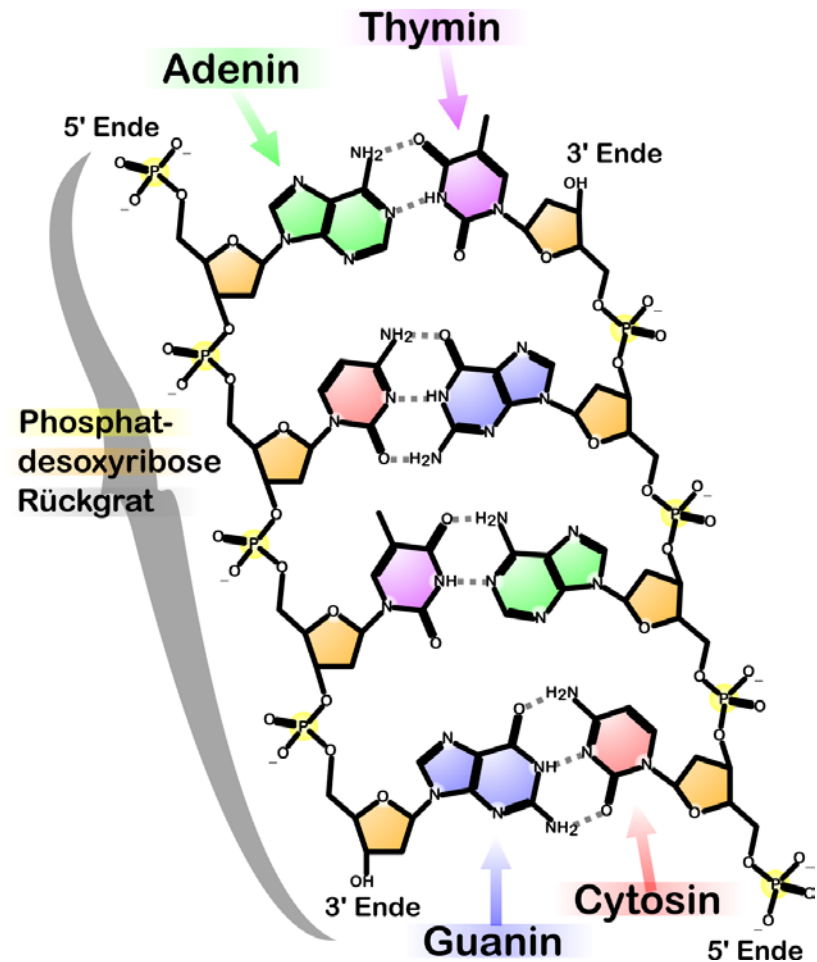
Strukturelle Ursache für die Furchenbildung (speziell auf B-DNA bezogen)

- 2 Ketten antiparallel zueinander, verbunden über Watson-Crick-Basenpaarungen
- Basenpaare beinahe senkrecht zur Helix-Achse und entlang der Achse gestapelt
 - somit 'Distanz zwischen Basenpaaren' = 'Anstieg der Helix pro Basenpaar'



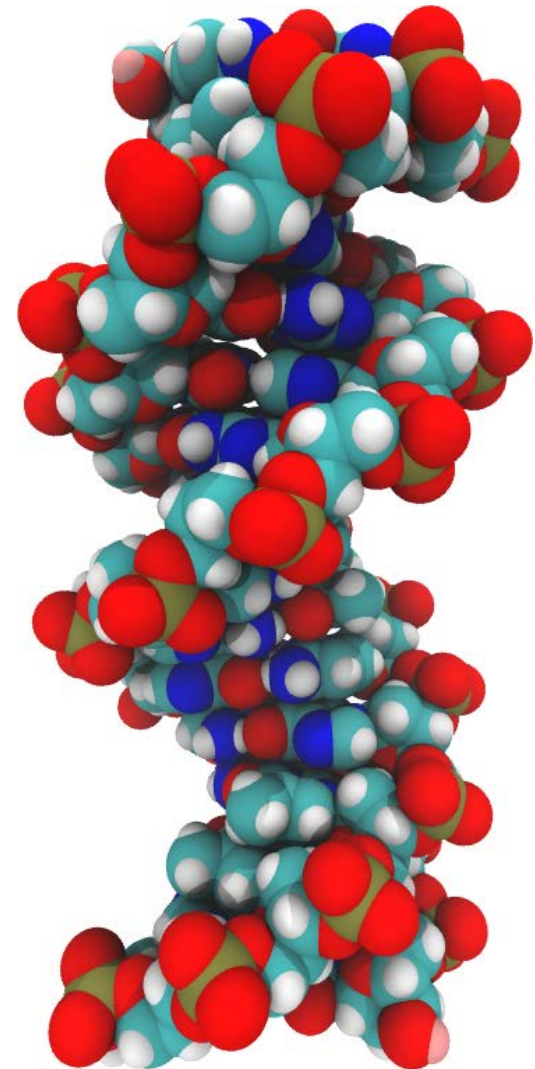
Strukturelle Ursache für die Furchenbildung (speziell auf B-DNA bezogen)

- die beiden Desoxyribose Zucker an der Basis eines Basenpaares sind zueinander asymmetrisch
- diese Asymmetrie bewirkt, daß die Lücke zwischen den Zuckern zwei fortlaufende Einbuchtungen unterschiedlicher Dimension formt, die parallel zu den Zucker-Phosphodiester-Ketten verläuft
 - Furchen (grooves)



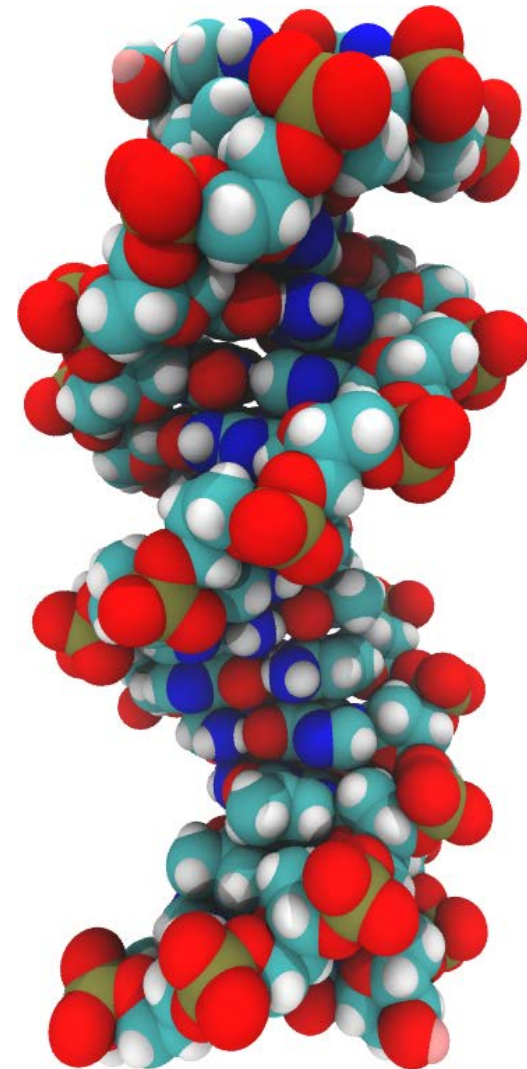
Strukturelle Ursache für die Furchenbildung (speziell auf B-DNA bezogen)

- die Abmessungen und insbesondere die Tiefe der Furchen hängen ab von
 - Der Distanz der Basenpaare von der Helixachse
 - Orientierung der Basenpaare relativ zur Helixachse
- große und kleine Furche fast gleich tief



Strukturelle Ursache für die Furchenbildung (speziell auf B-DNA bezogen)

- kleine Furche besitzt die hydrophoben H-Atomen der Zuckergruppen, die ihre Wände bilden
- große Furche ist im allgemeinen reicher an basischen Substituenten
 - O6, N6 → Purine
 - N4, O4 → Pyrimidine
- die chemischen und sterischen Unterschiede zwischen großer und kleiner Furche haben wichtige Bedeutung für die Interaktion mit anderen Molekülen



DNA-Konformation wird beeinflusst durch ...

- Grad der Hydratation
- DNA Sequenz
- Stärke und Richtung des DNA Supercoiling
- chemische Modifikationen der Basen
- Typ und Konzentration von Metallionen
- Anwesenheit von Polyaminen in der Lösung

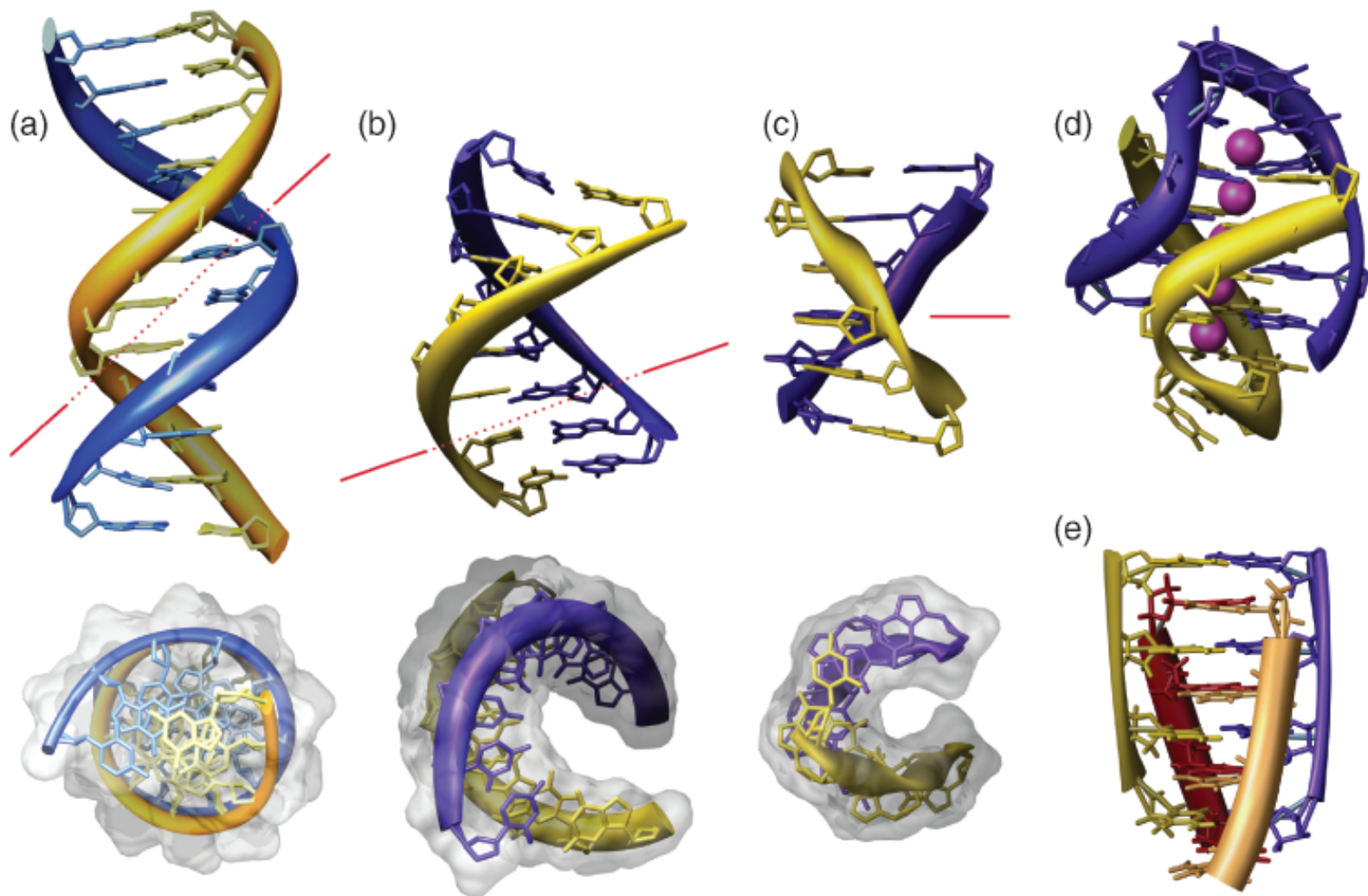


Figure 3.11. Important structural forms of DNA. Molecules are colored by strand. (a) B-DNA dodecamer (Drew et al., 1981); (b) A-DNA octamer (McCall et al., 1985); (c) Z-DNA hexamer (Gessner et al., 1989 ; Frederick et al., 1990); (d) DNA guanine tetraplex. Four guanine tetramers are flanked by two T-T-T-T loops, potassium cations are shown in magenta (Haider, Parkinson, and Neidle, 2002); (e) cytosine tetraplex, or i-motif (Chen et al., 1994). In (a), (b), and (c), two perpendicular views are shown. The minor groove is shown in the red line.

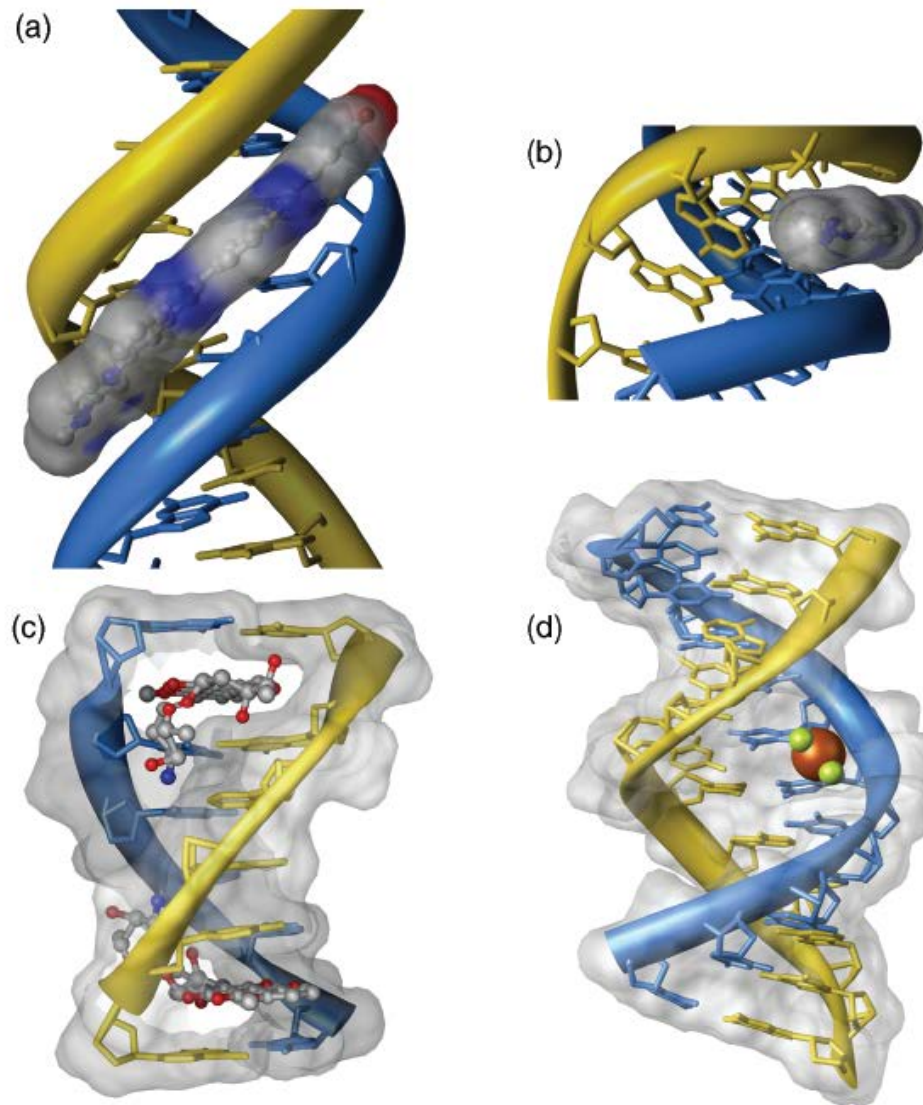
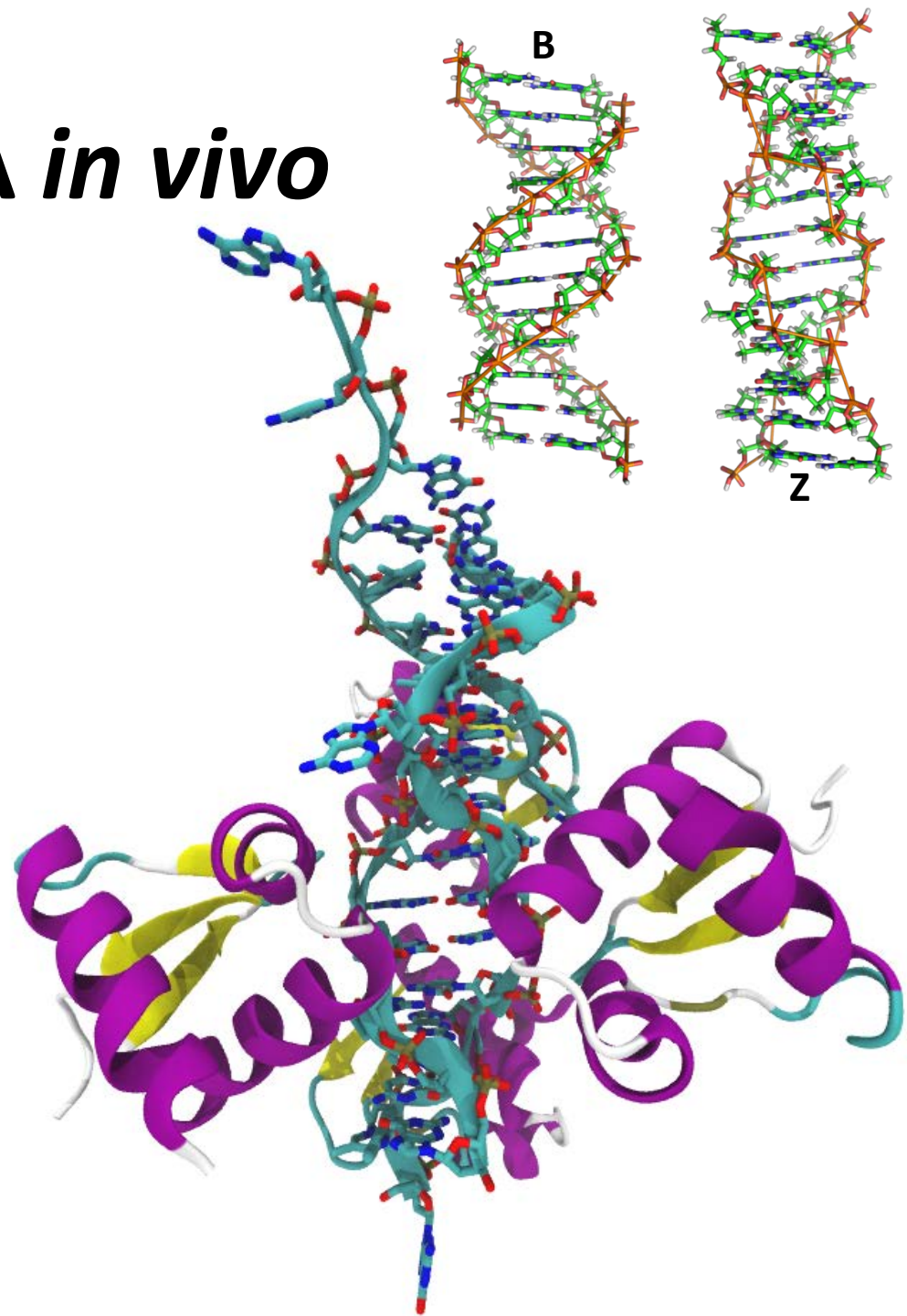


Figure 3.12. Double-helical DNA interacting with drug molecules. (a) and (b) Drug Hoechst 33258 binding to the minor groove of B-DNA (Quintana et al., 1992). (b) Shows the fit of flat drug molecule into the minor groove; (c) drug daunomycin intercalated between base pairs of B-DNA octamer CGATCG (Moore et al., 1989); (d) *cis* platinum covalently bound to guanine bases. Pt is shown as a large sphere with the NH₂ groups pointing to the viewer. Two Pt–N7(G) bonds (point into the paper plane) bend DNA double helix (Takahara et al., 1995).

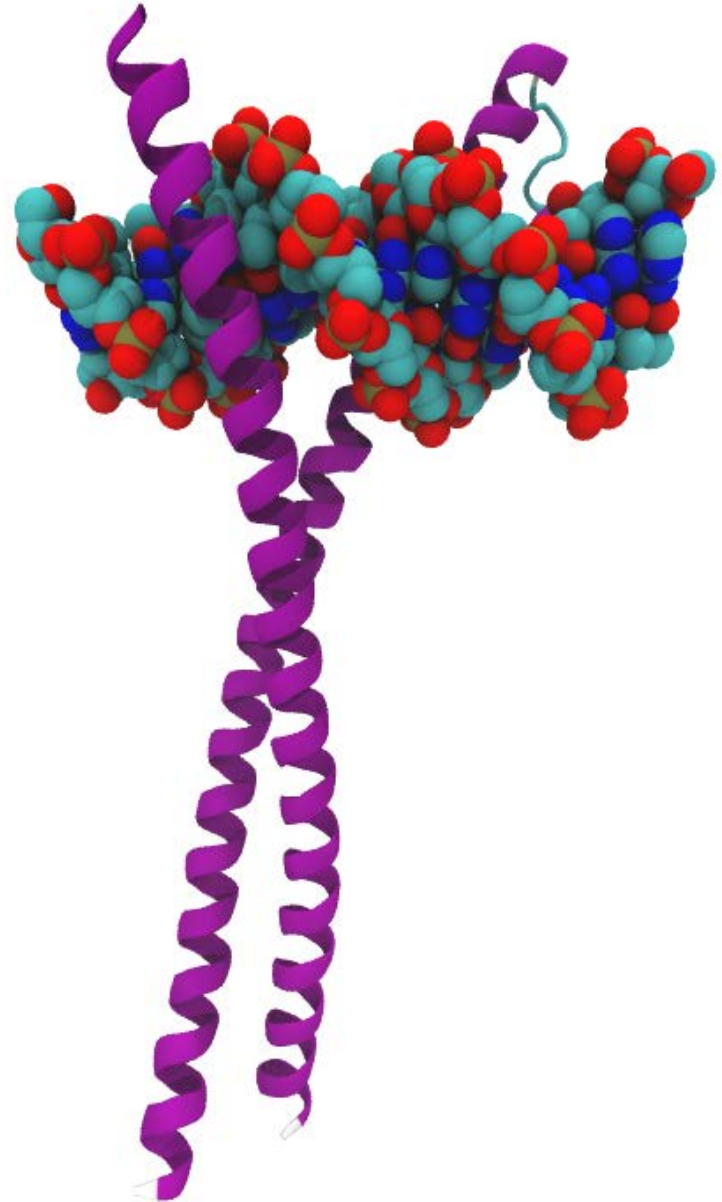
Z-DNA *in vivo*

- in Eukaryoten können GC-reiche Regionen an GpC-Dinukleotiden methyliert sein
- bewirkt eine Konformationsänderung der DNA zur Z-DNA
- Z-DNA bindende Proteine können diese Regionen erkennen und womöglich als Transkriptionsfaktoren agieren (Oh et al. 2002, PMID:12486233)



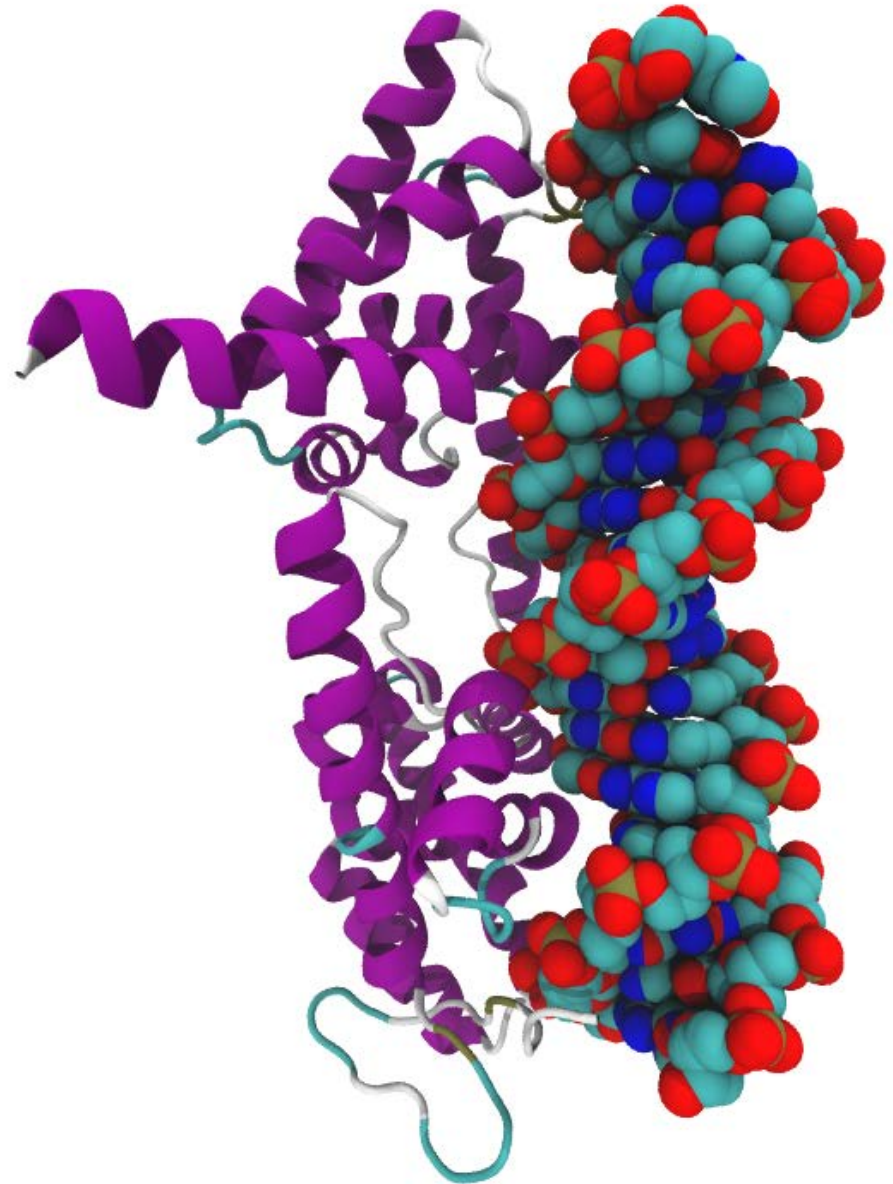
Beispiele für Protein-DNA Komplexe

- Leucin Zipper,
PDB:2WT7



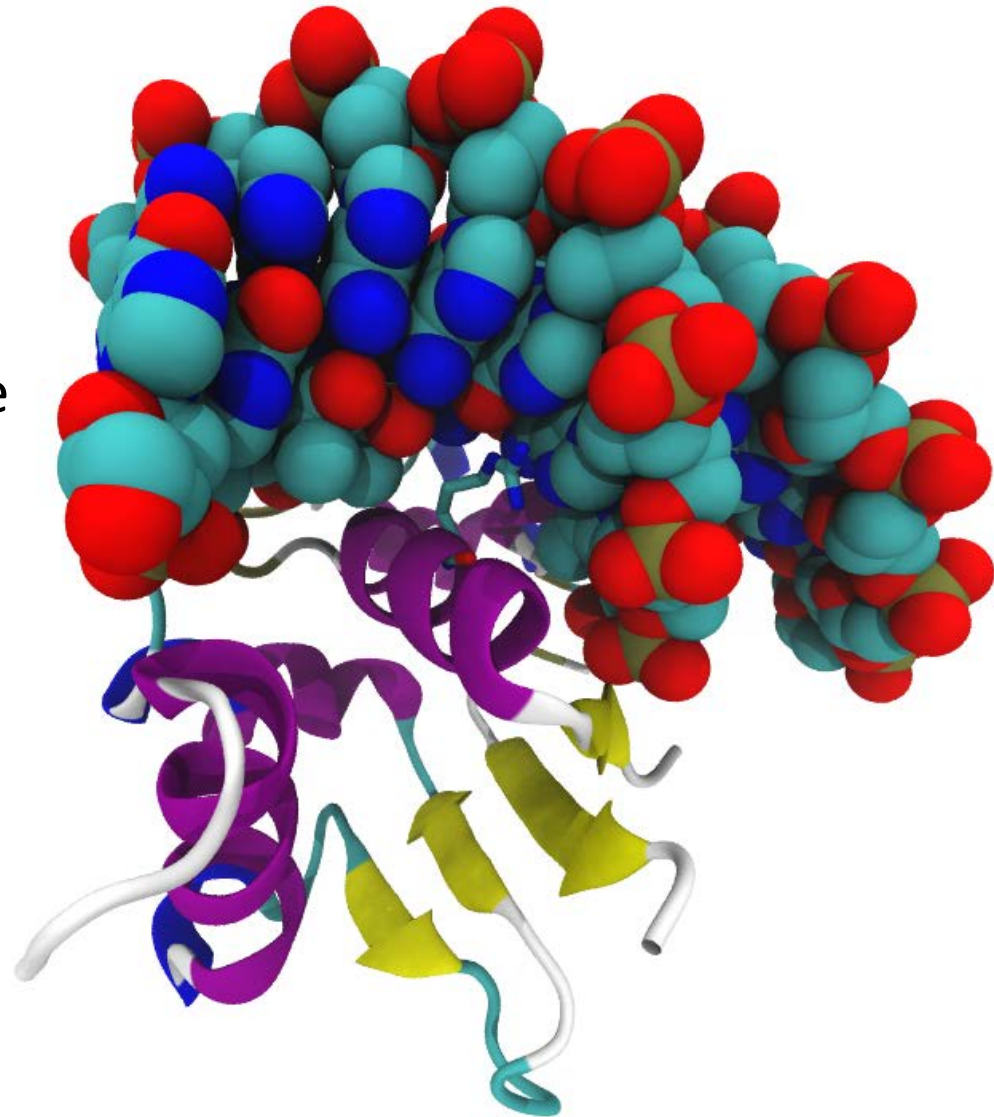
Beispiele für Protein-DNA Komplexe

- Leafy Transcription Factor from *A. thaliana* in complex with DNA from AP1 promoter, PDB:2VY1
 - helikales Dipolmoment bindet N-Terminus einer Helix an Phosphat des DNA Rückgrats



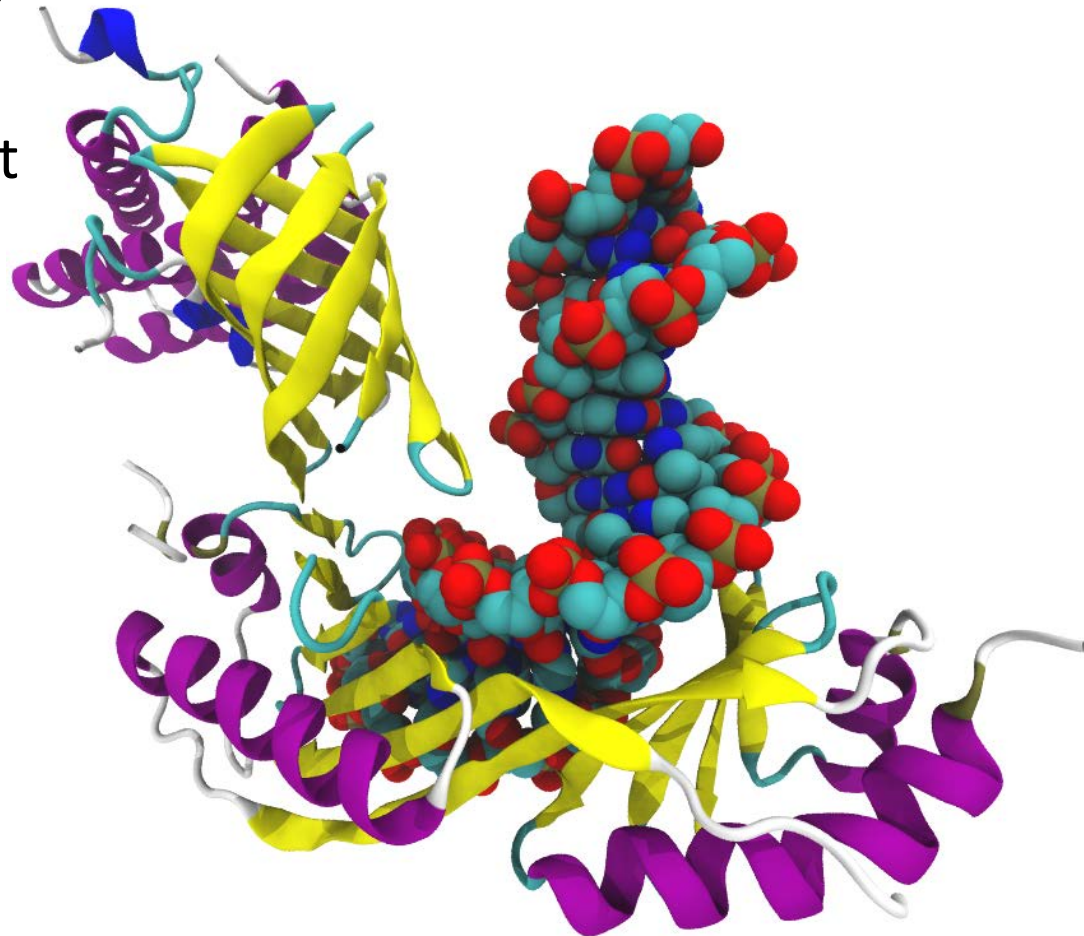
Beispiele für Protein-DNA Komplexe

- Heat Shock Factor (HSF), PDB:3HTS
 - Transkriptionsfaktor
 - Bindung an große Furche



Beispiele für Protein-DNA Komplexe

- TATA binding protein, PDB:1RM1
 - DNA Konformation ist eine A-B Chimäre

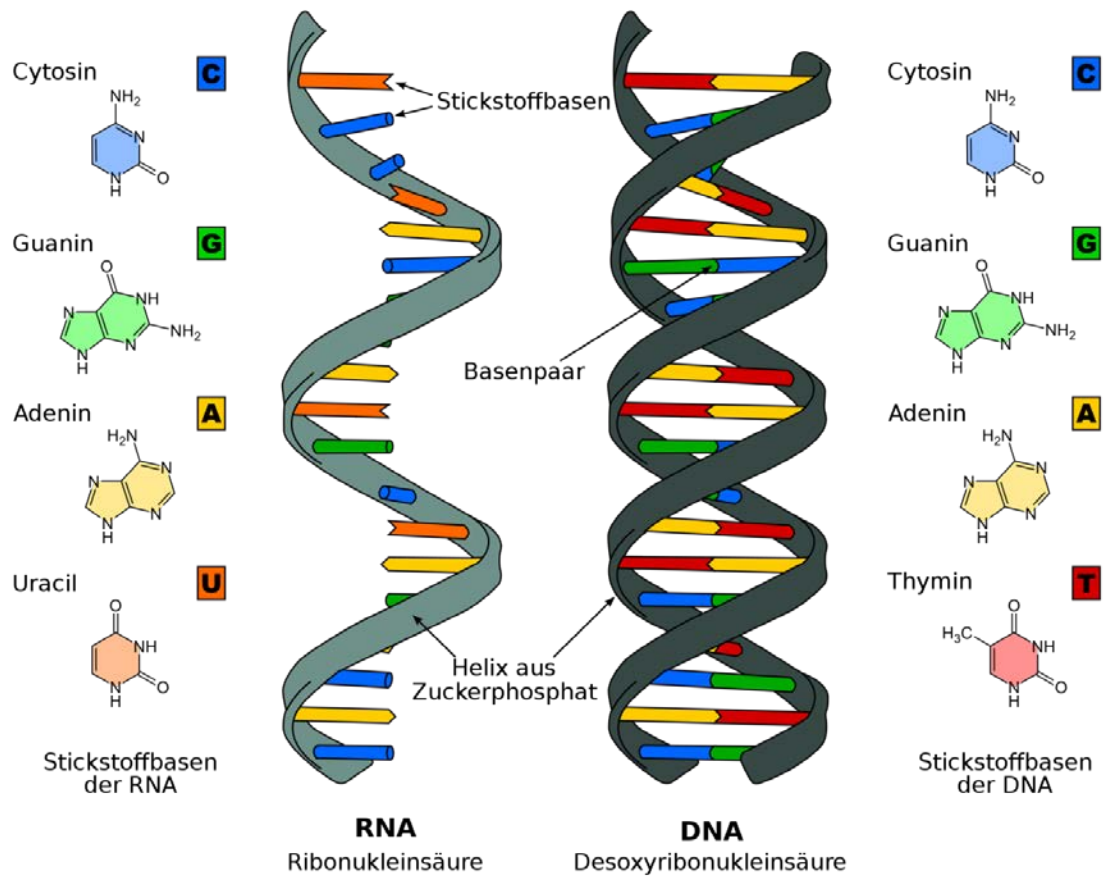


RNA- und DNA-Strukturen

RNA

Unterschiede zwischen RNA und DNA

- RNA in der Regel einzelsträngig
- Pentose am C2 mit OH-Gruppe anstelle nur eines Wasserstoffs im Falle der DNA
- Uracil anstelle von Thymin



RNA-Struktur

- RNA Moleküle spielen eine Schlüsselrolle sowohl in der Transkription als auch Translation
- entweder ist die komplexe 3D Struktur oder lediglich die Primärsequenz für die Funktion verantwortlich
- katalytische oder strukturelle Funktion bedingt durch komplexe 3D Struktur:
 - Transfer RNA (tRNA)
 - ribosomale RNA (rRNA)
 - Ribozyme (z.B. 23S-RNA knüpft Peptidbindung bei Translation)
 - Riboswitch (in UTR der mRNA, binden Metabolite und regulieren daraufhin die Genexpression)
- andere RNAs, z.B. micro-RNAs und snoRNAs üben ihre Funktionen über simple Basenpaarungen mit ihren Ziel-RNAs aus

RNA-Struktur

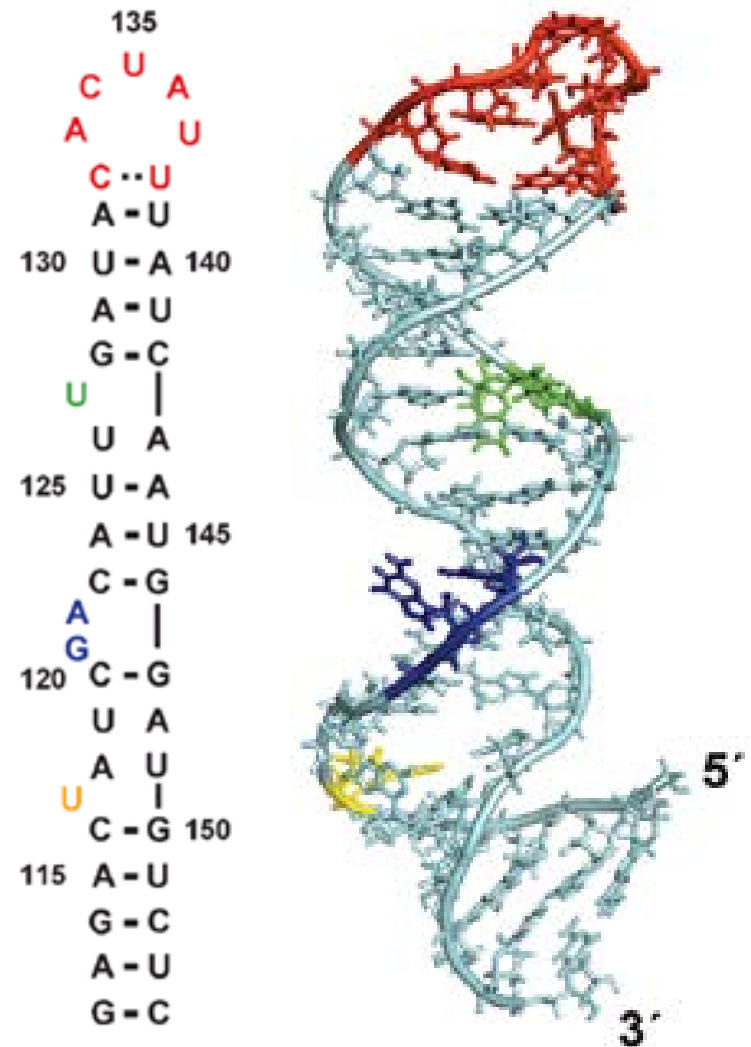
- es gibt 3 RNA Strukturebenen:
 - Primärsequenz
 - Sekundärstruktur
 - Tertiärstruktur
- jede strukturelle Ebene mit essentieller Rolle in der Funktion der RNA

Primärsequenz

- die 4 häufigsten Basen
 - Adenin
 - Guanin
 - Cytosin
 - Uracil (dem Thymin der DNA ähnliches Pyrimidin)
- zusätzlich können viele modifizierte Basen auftreten; recht häufig sind z.B.:
 - Pseudouridin
 - DNA Base Thymin

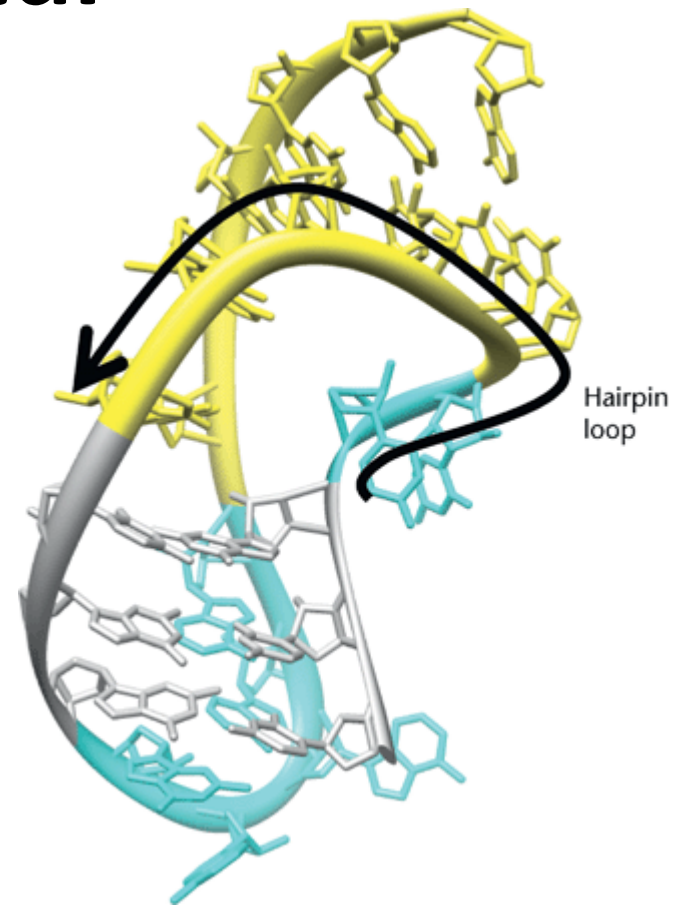
Sekundärstruktur

- Duplexe
 - Helices und stems
 - werden gebildet, wenn komplementäre Regionen eines Moleküls binden und eine rechts-gewundene Helix ausbilden
 - stabilisiert durch H-Brücken komplementärer Basen und stacking Interaktionen
- Loops
 - Regionen, die keinen Duplex ausbilden



Tertiärstruktur

- Interaktion von Duplexen und Loops bilden eine kompakte 3D Struktur
- intramolekulare Basenpaarungen zwischen Nukleotiden kann zu Strukturen führen, die komplexer sind als Helices, z.B.
 - Pseudoknoten
 - Loop am Ende einer Helix ist Teil einer anderen helikalen Region
 - aber nicht immer Teil einer Helix
 - oftmals weitreichende tertiäre Interaktionen
 - triple pair
 - 3 unterschiedliche Nukleotide, die untereinander H-Brücken ausbilden



Beispiel: Pseudoknoten

Hairpin Duplex → grau

Hairpin Loop → gewundener Pfeil

zusätzlicher Duplex in Pseudoknoten → yellow

2 Loops, die die Duplexe verbinden → Cyan

Tertiärstruktur

- Vorhersage der 3D Struktur der tRNA größtenteils aufgrund phylogenetischer Analyse (Levitt 1969)
- seitdem wurden viele RNA-Strukturen mittels Kristallographie und NMR gelöst (Kim et al. 1972; Kim et al. 1973; Laederach 2007)
- heutzutage einige 100 Strukturen – meist kleine RNA Fragmente – in der **Protein Data Bank (PDB)** und **Nucleic Acid Database (NDB)**
- aber: das Lösen größerer RNA-Strukturen ist aufgrund ihrer Größe und Flexibilität sehr schwer
- daher: computer-basierte Modellierung von RNA-Strukturen als attraktive Alternative

Unterschiede zwischen RNA-, DNA- und Proteinstruktur

- RNA Rückgrat enthält Ribose anstelle von Desoxyribose der DNA
- Ribose enthält eine Hydroxylgruppe mehr an der 2' Position → höhere Flexibilität des Rückgrats der RNA
- das führt zur großen Vielfalt an RNA-Strukturen im Vergleich zur generell als Doppelhelix vorliegenden DNA
- RNA ist typischer Weise ein einzelsträngiges Molekül mit Duplexstrukturen
- durch Interaktionen dieser Duplexe wird eine hoch komplexe 3D Struktur geschaffen, die es der RNA erlauben, regulative Funktionen in der Zelle auszuüben

Unterschiede zwischen RNA-, DNA- und Proteinstruktur

- funktionale RNA Moleküle ähneln Proteinen in ihrer Fähigkeit, komplexe 3D Strukturen anzunehmen, um chemische Reaktionen zu katalysieren
- aber:
 - Proteine bestehen aus 20 verschiedenen Aminosäuren, die sich in Größe, Form, Polarität und Ladung unterscheiden
 - RNA hingegen besteht aus nur vier sehr ähnlichen Basen
- Proteine: hydrophober Kollaps ermöglicht Erkenntnisse über Proteinfaltung und –struktur
- RNA: negativ geladenes Rückgrat interagiert mit Kationen in der Lösung, um eine kompakte Struktur zu bilden
 - Literatur: Heilman-Miller et al. 2001, Russell et al. 2002, Williamson 2005

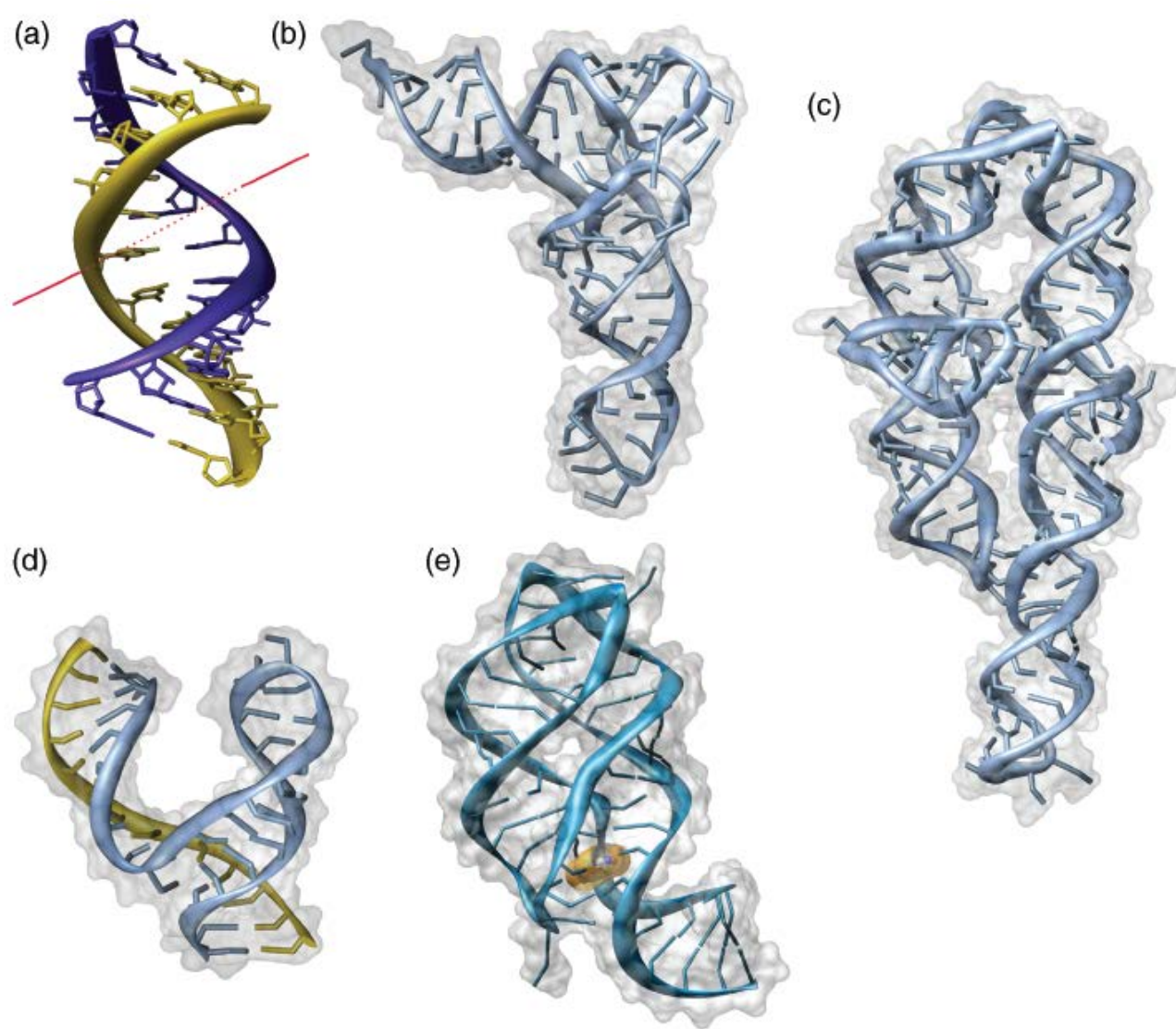


Figure 3.13. Examples of RNA molecules: (a) A-RNA dodecamer with non-Watson-Crick base pairs in the double helix (Holbrook et al., 1991); (b) phenylalanine transfer RNA (Sussman et al., 1978; Brown et al., 1985); (c) group I intron ribozyme (Cate et al., 1996); (d) Hammerhead ribozyme. The shorter strand is the DNA inhibiting the catalyzed reaction (Pley, Flaherty, and McKay, 1994); (e) guanine riboswitch (Batey, Gilbert, and Montange, 2004). Hypoxanthine bound in the active site is shown in yellow.

Sekundärstrukturen der RNA



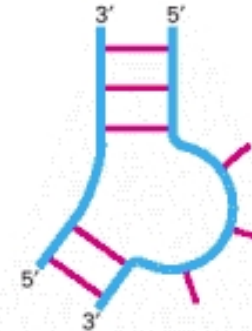
single strand



double strand



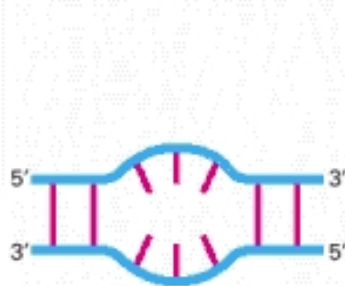
single-nucleotide bulge



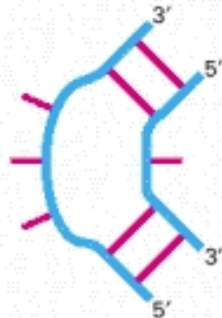
three-nucleotide bulge



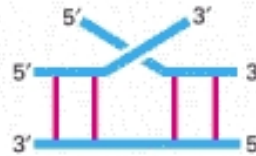
hairpin loop



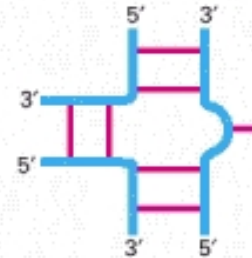
symmetric internal loop



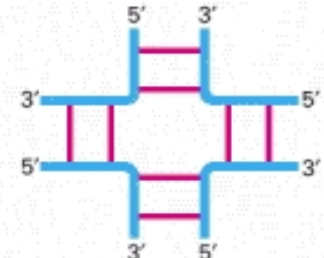
asymmetric internal loop



two-stem junction or coaxial stack



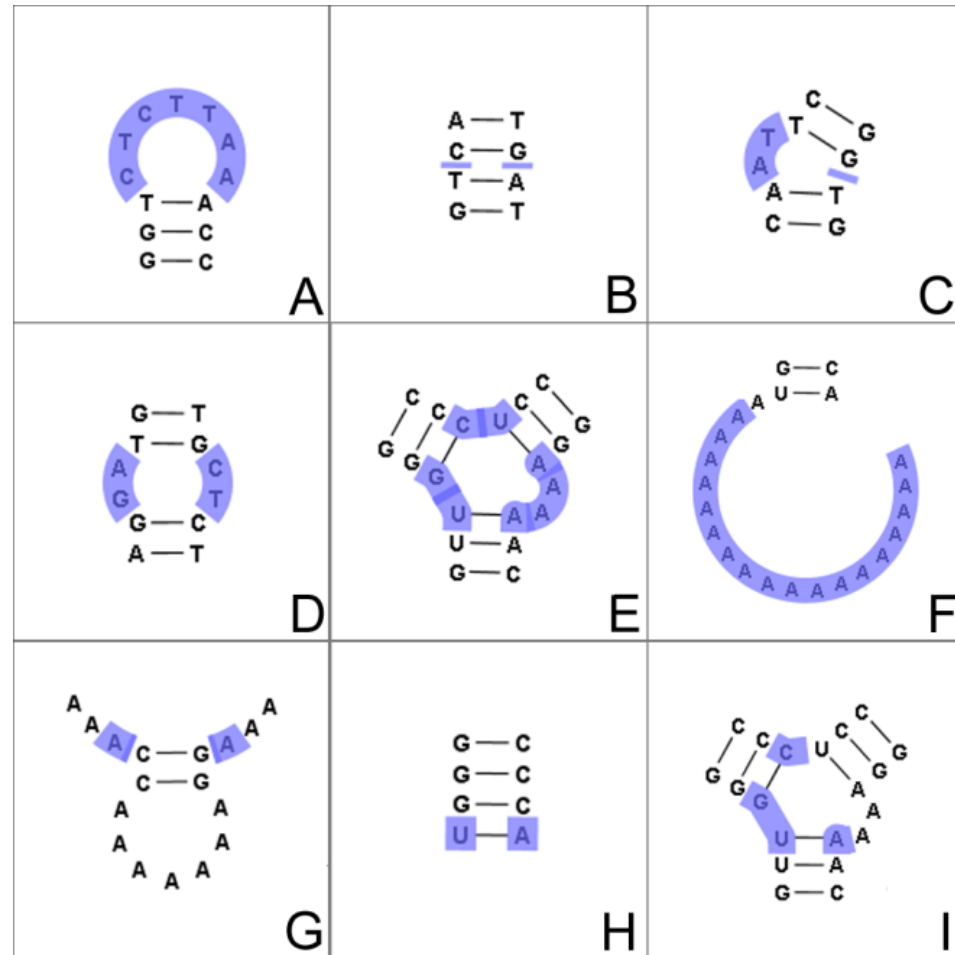
three-stem junction



four-stem junction

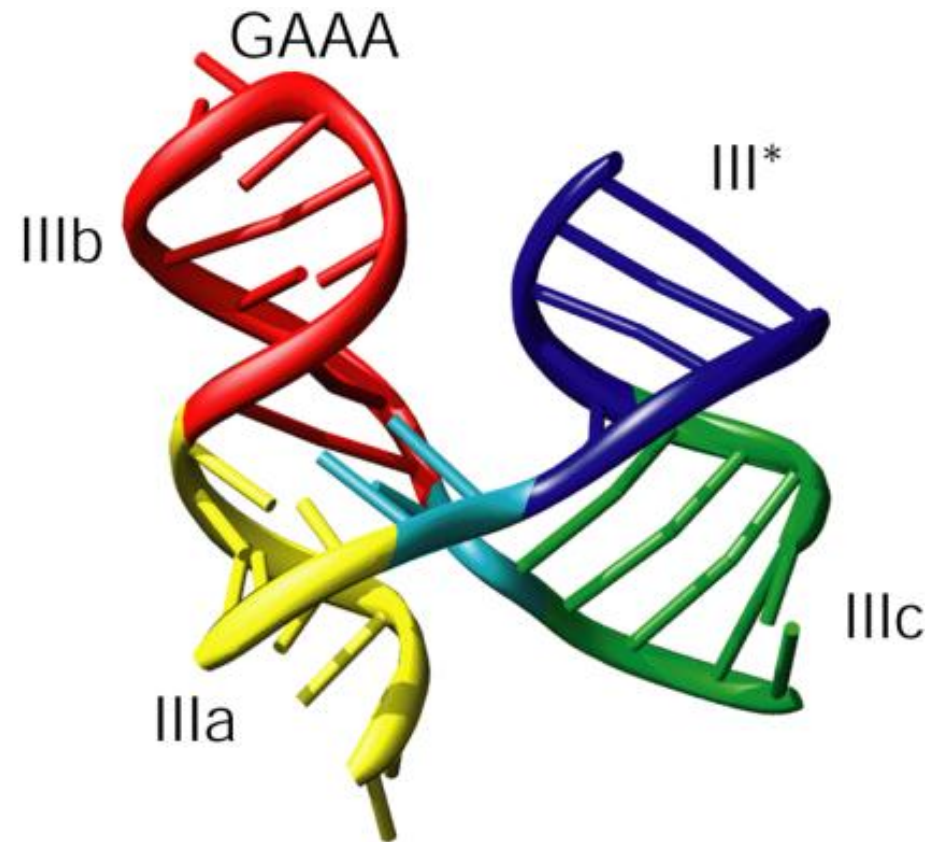
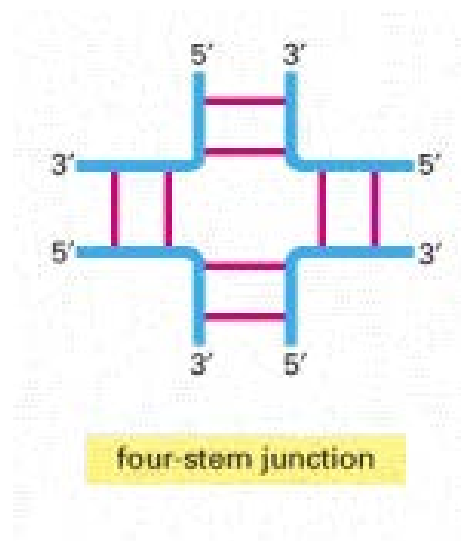
Sekundärstrukturen der RNA

- (A) hairpin loop
- (B) stack
- (C) bulge
- (D) interior loop
- (E) multi loop
- (F) exterior/external loop
- (G) dangling nucleotide
- (H) energy penalty after stem
- (I) coaxial stacking

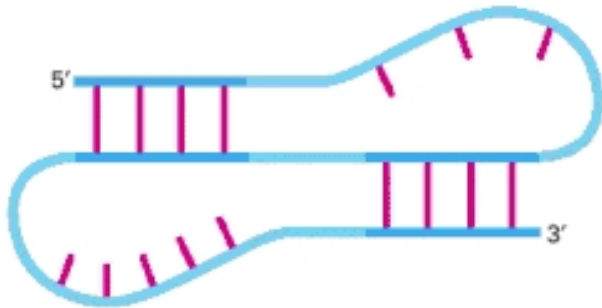


Sekundärstrukturen der RNA

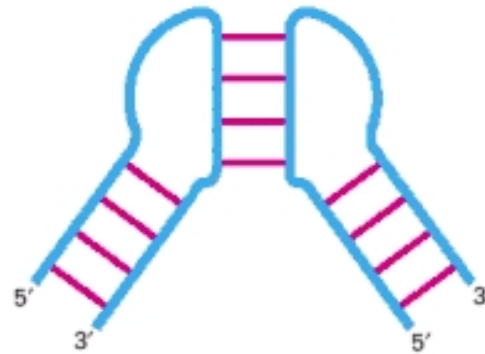
- 4-way/-stem junction in 3D
- Kieft et al. (2002) *Nat Struct Biol*



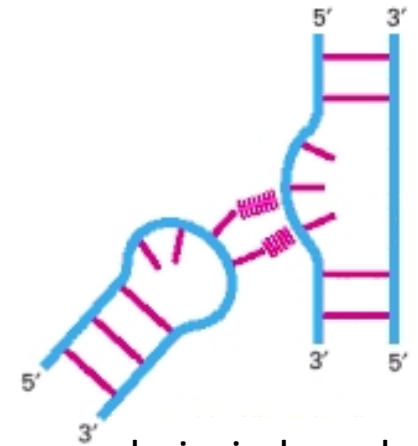
Beispiele für RNA Interaktionen in 3D



pseudoknot



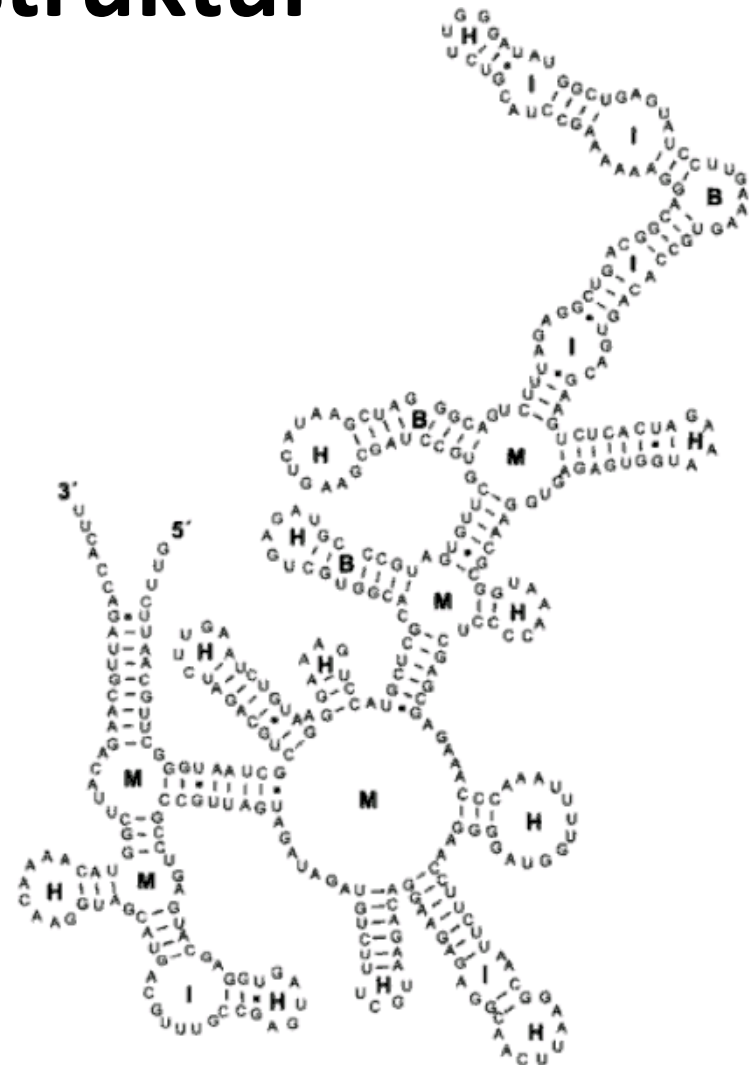
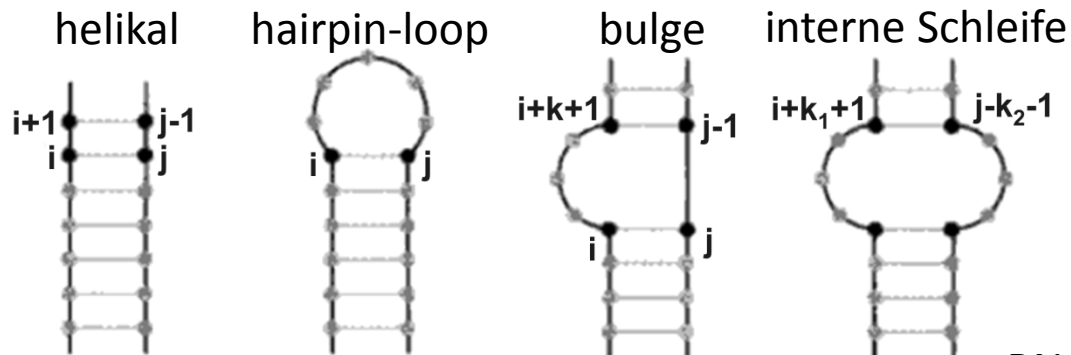
kissing hairpins



hairpin loop-bulge
contact

Beispiel für eine RNA-Sekundärstruktur

- Großteil der Nukleotide ist in helikale Strukturen eingebunden
- daneben kommen 4 Klassen von Schleifen (loops) vor:
 - H: hairpins
 - I: interne Schleifen
 - B: Ausbuchtungen (bulge)
 - M: Multi-Loops



RNase P aus *Bacillus subtilis* (nach M. Zuker)

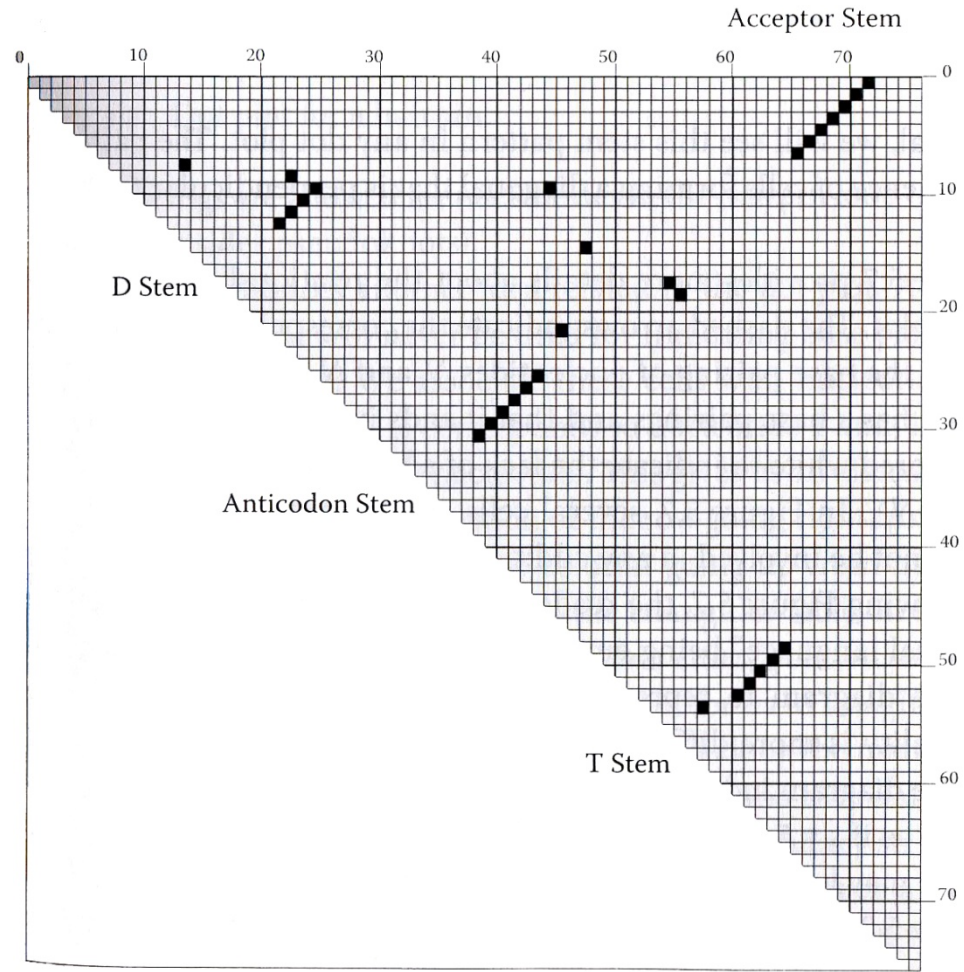
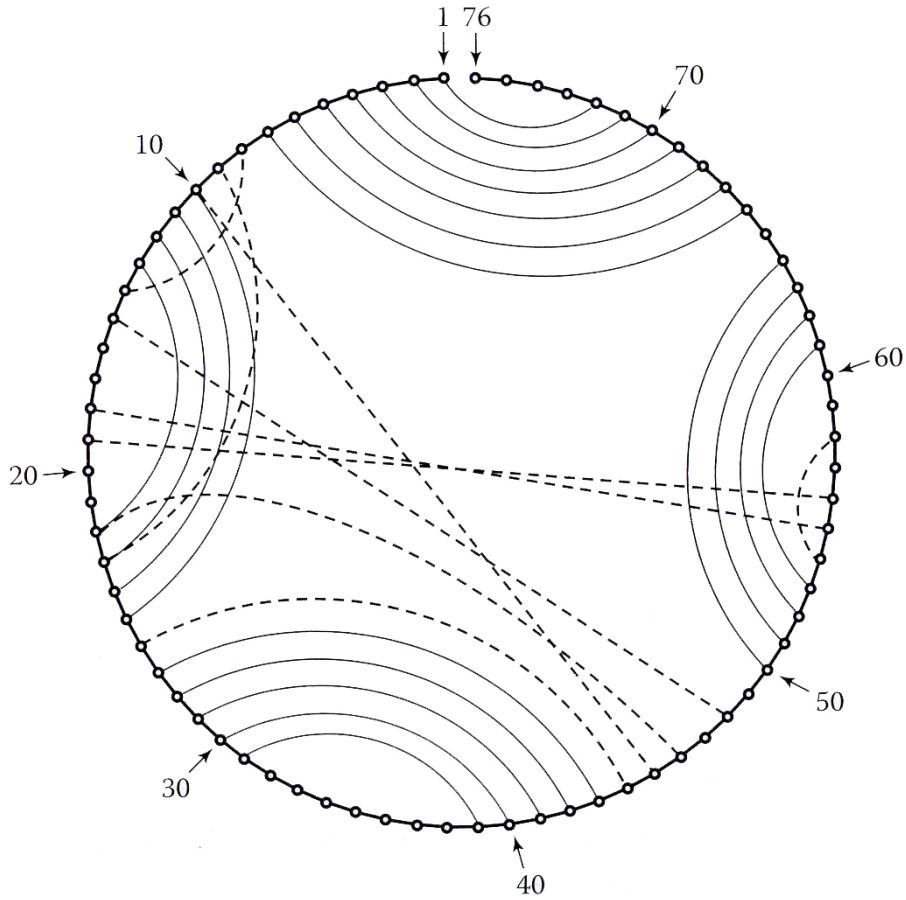
RNA- und DNA-Strukturen

ERSTER ALGORITHMUS ZUR VORHERSAGE DER SEKUNDÄRSTRUKTUR DER RNA

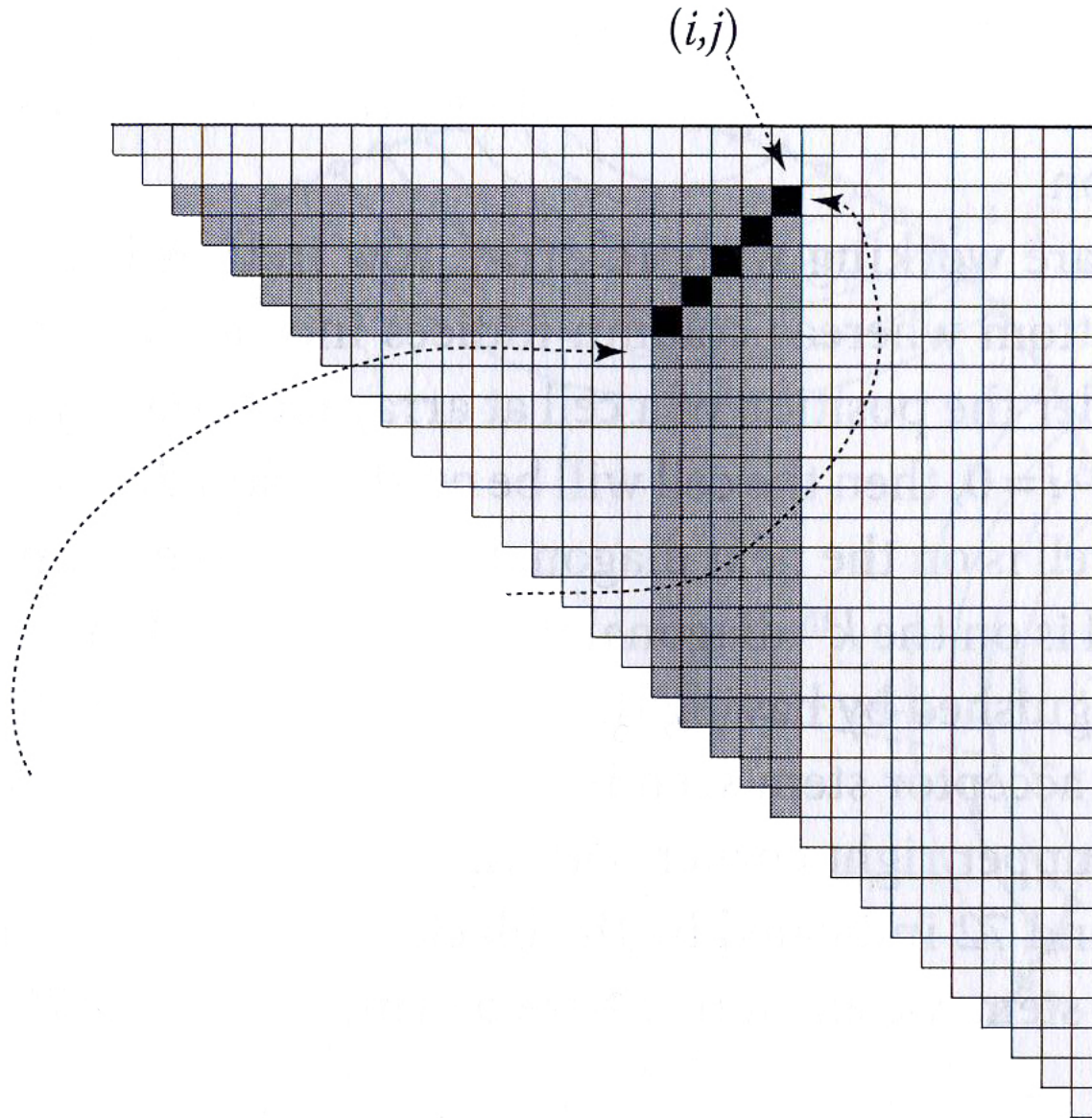
Überlegungen

- Moleküle nehmen generell die energetisch günstigste Konformation ein
- naheliegende Lösung: Energieberechnung sämtlicher möglicher Sekundärstrukturen
 - Ausgabe der energetisch günstigsten Konformation
- Aufzählen sämtlicher Lösungen ist bei RNA-2D-Vorhersage aus Komplexitätsgründen nicht möglich
 - Anzahl potenzieller Sekundärstrukturen wächst exponentiell mit der Länge der Sequenz
 - z.B. 120 Basen $\rightarrow 10^{47}$ mögliche Sekundärstrukturen

Circle vs. Dot Plot

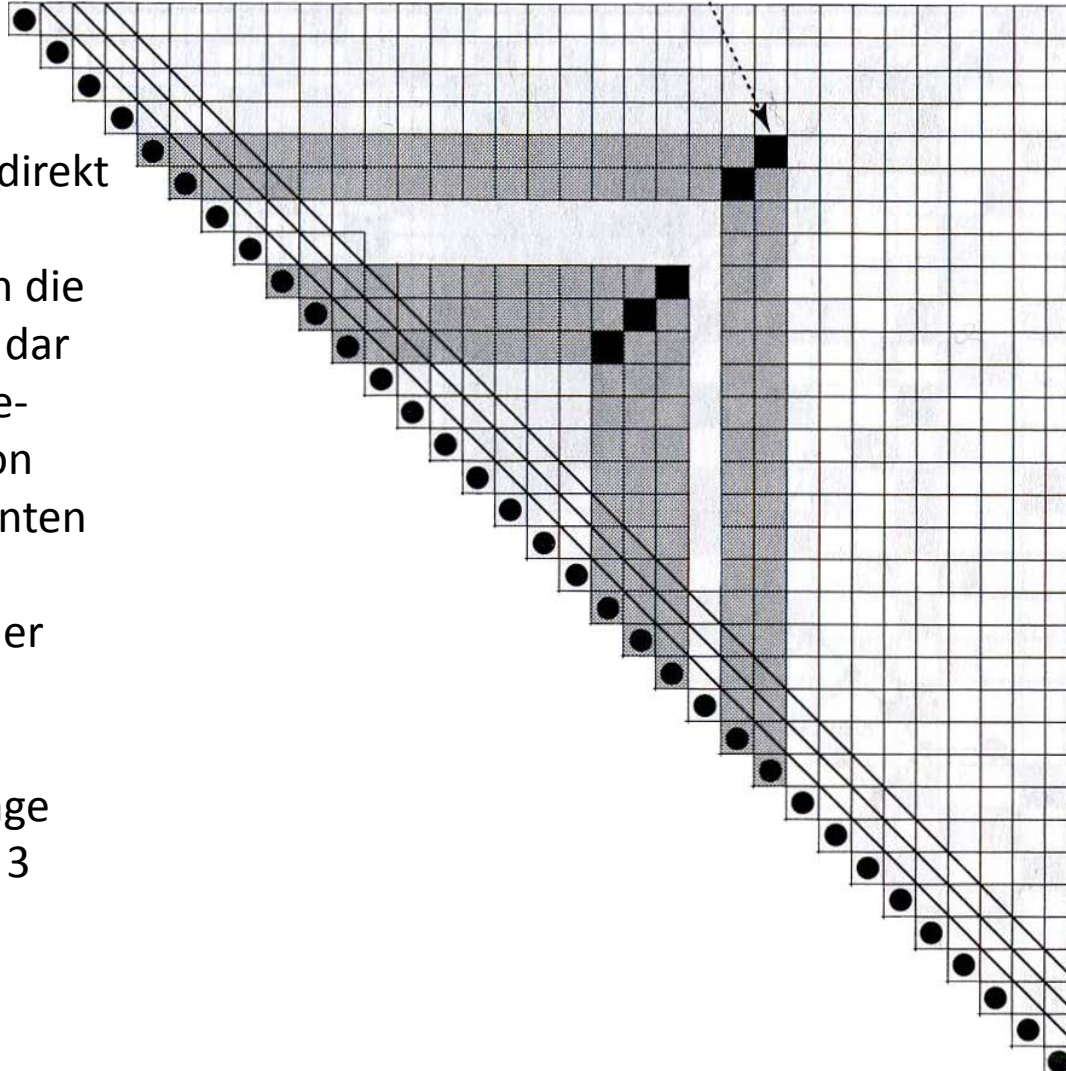


stem – helikale Struktur



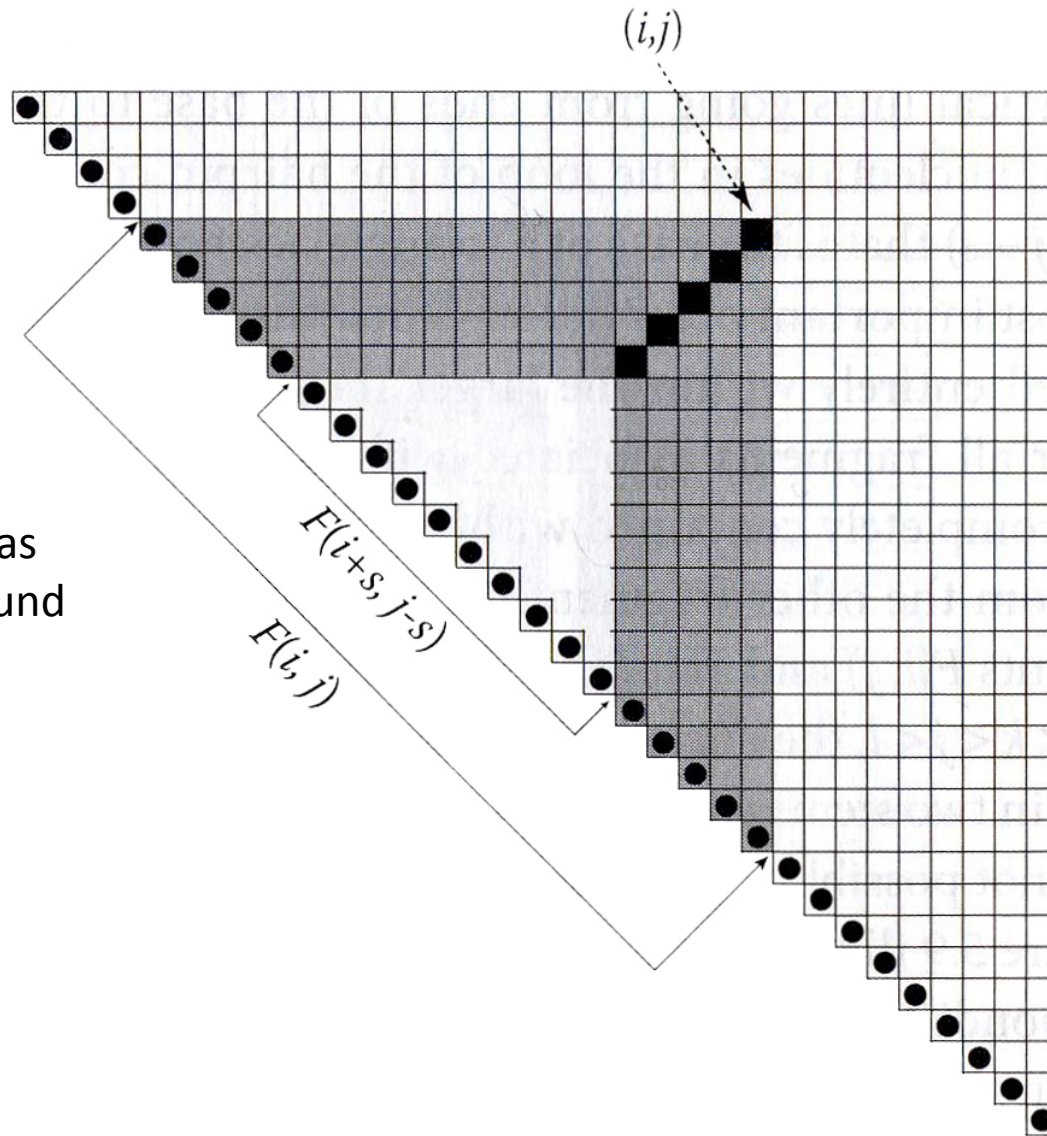
interner Loop

(i,j)



- die 3 Diagonalen direkt über der Hauptdiagonalen stellen die "forbidden zone" dar
- sie ist mit durchgezogenen Linien von oben links nach unten rechts markiert
- sie entsprechen der Ungleichung
$$j-i < 4$$
$$\rightarrow \text{d.h. Looplänge mindestens } 3$$

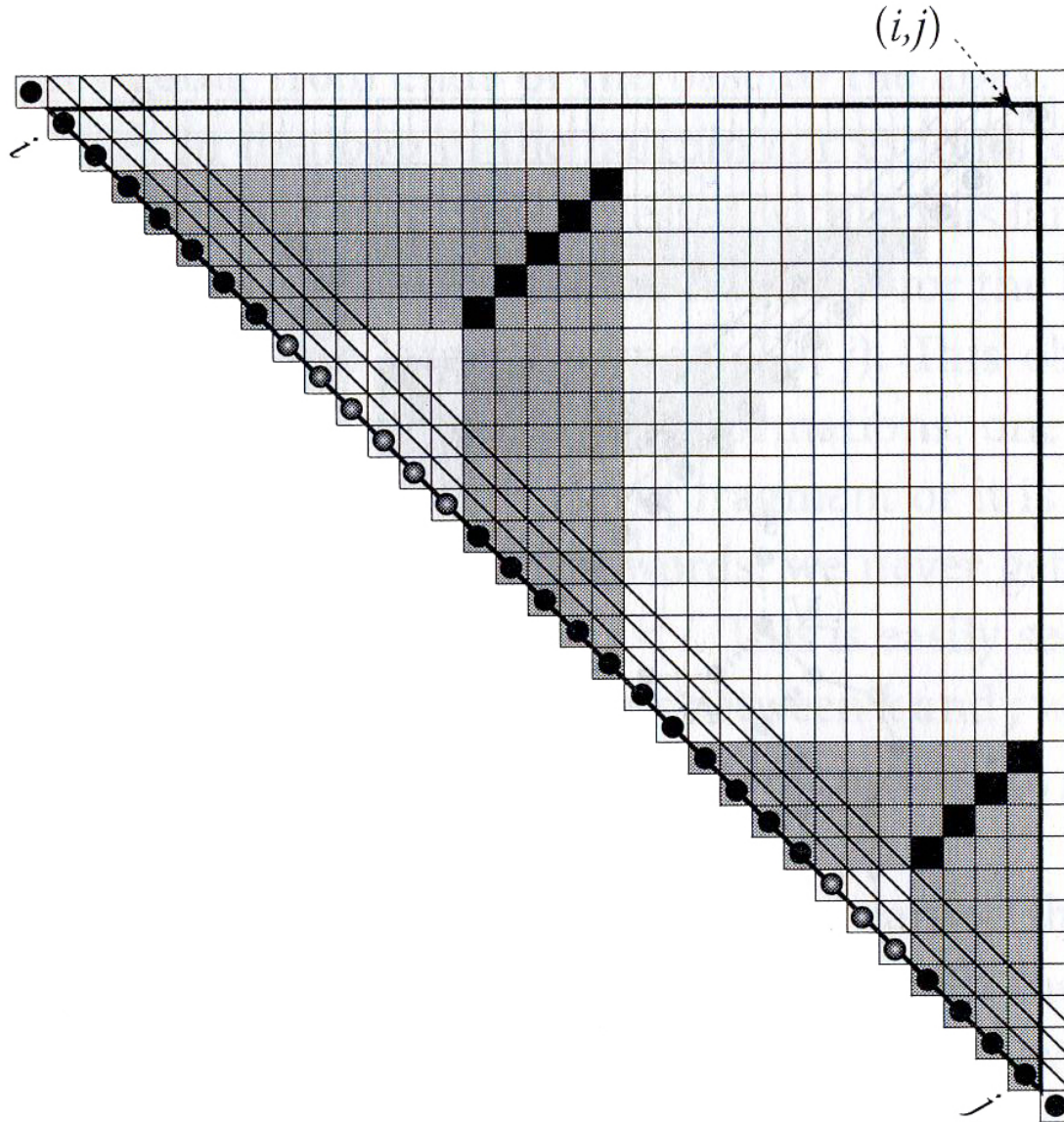
Hairpin



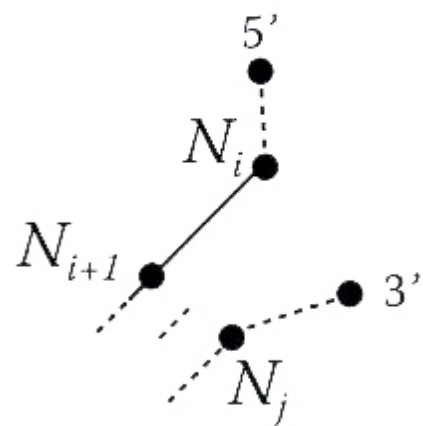
F=Fragment

$F(i,j)$ = Fragment, das
mit Base i beginnt und
mit Base j endet

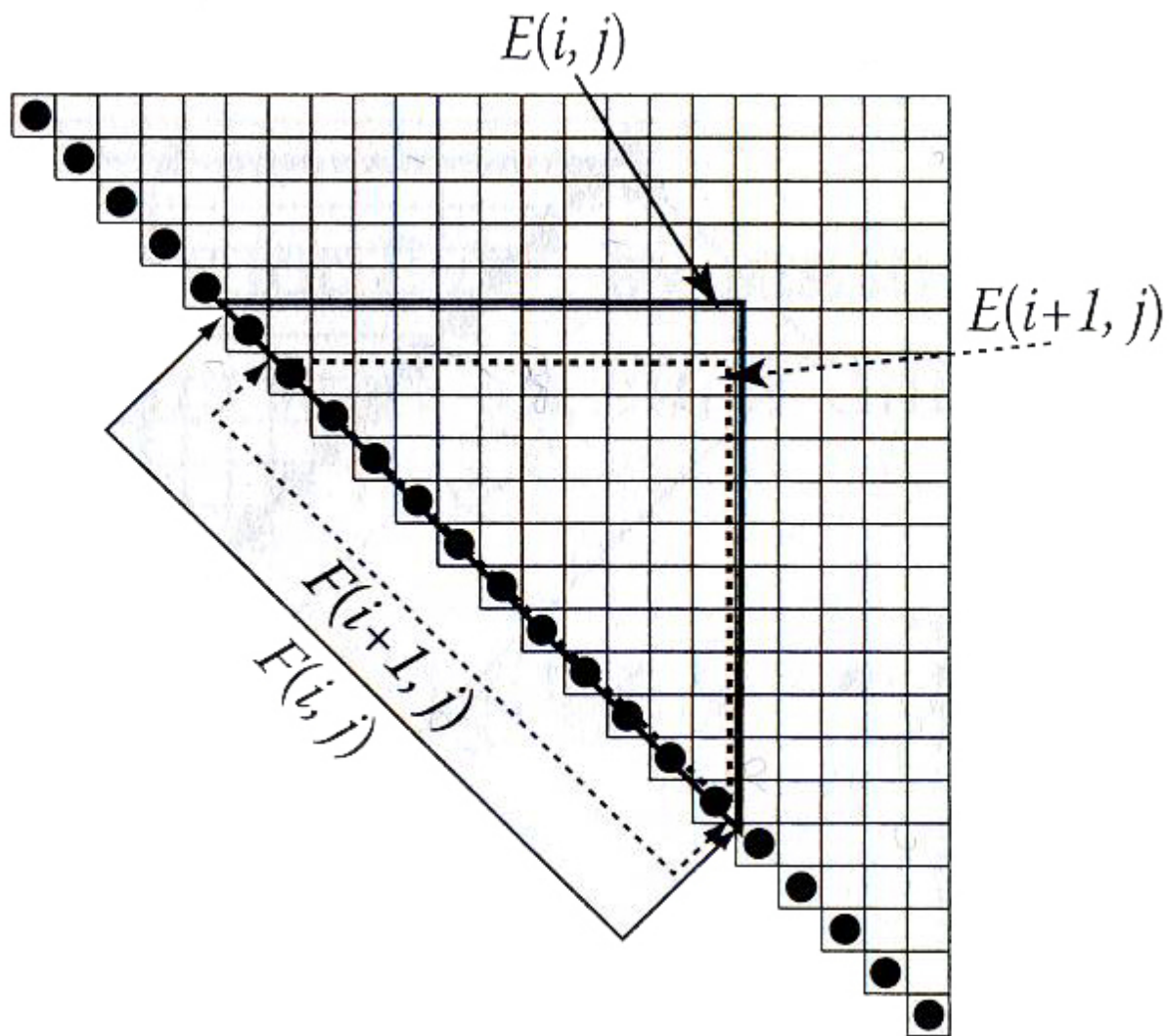
2 Hairpins

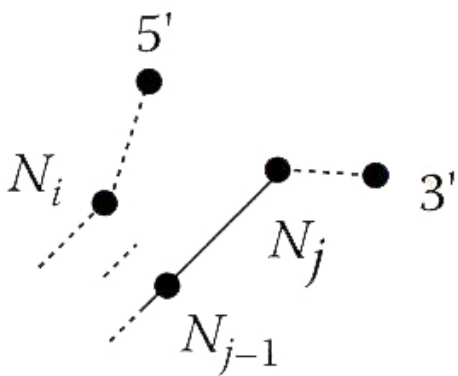


NUSSINOV (1978)

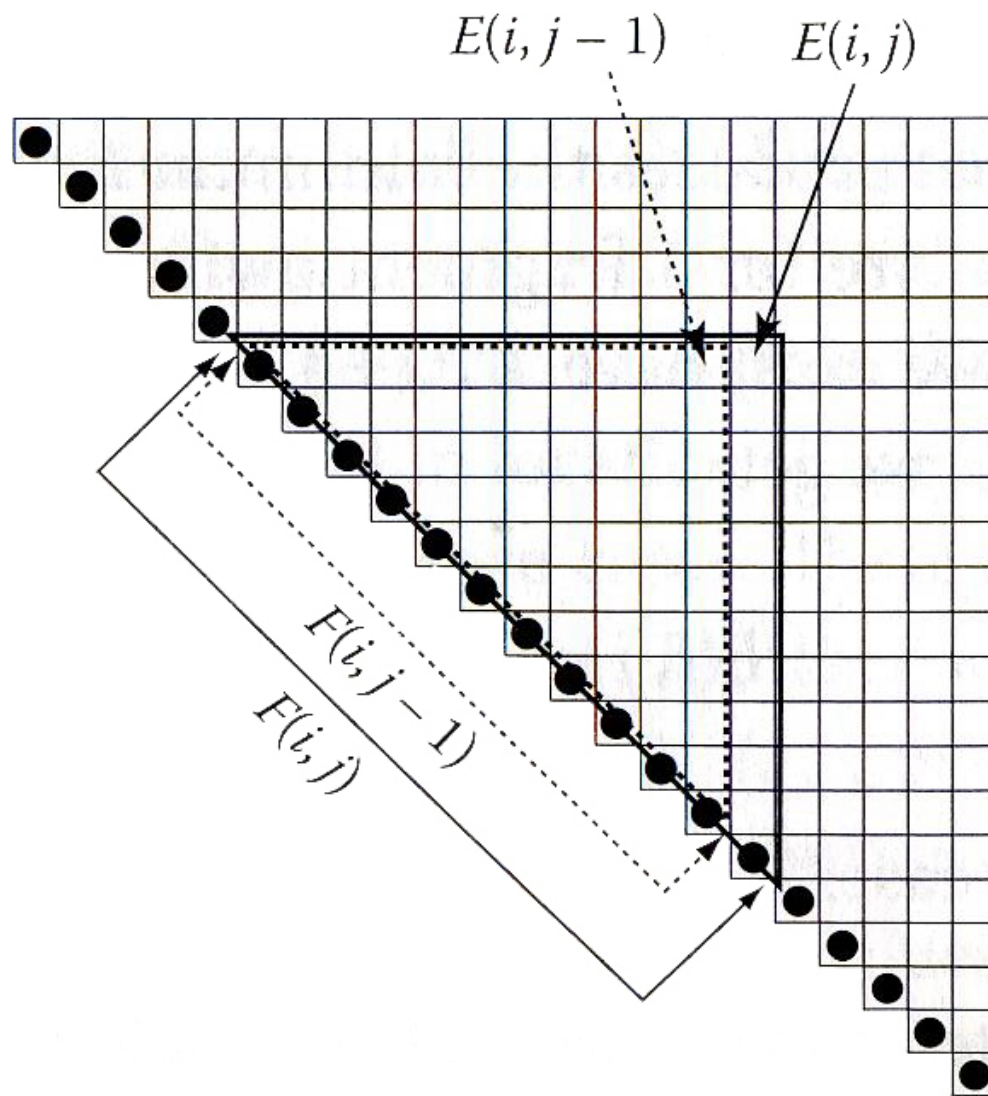


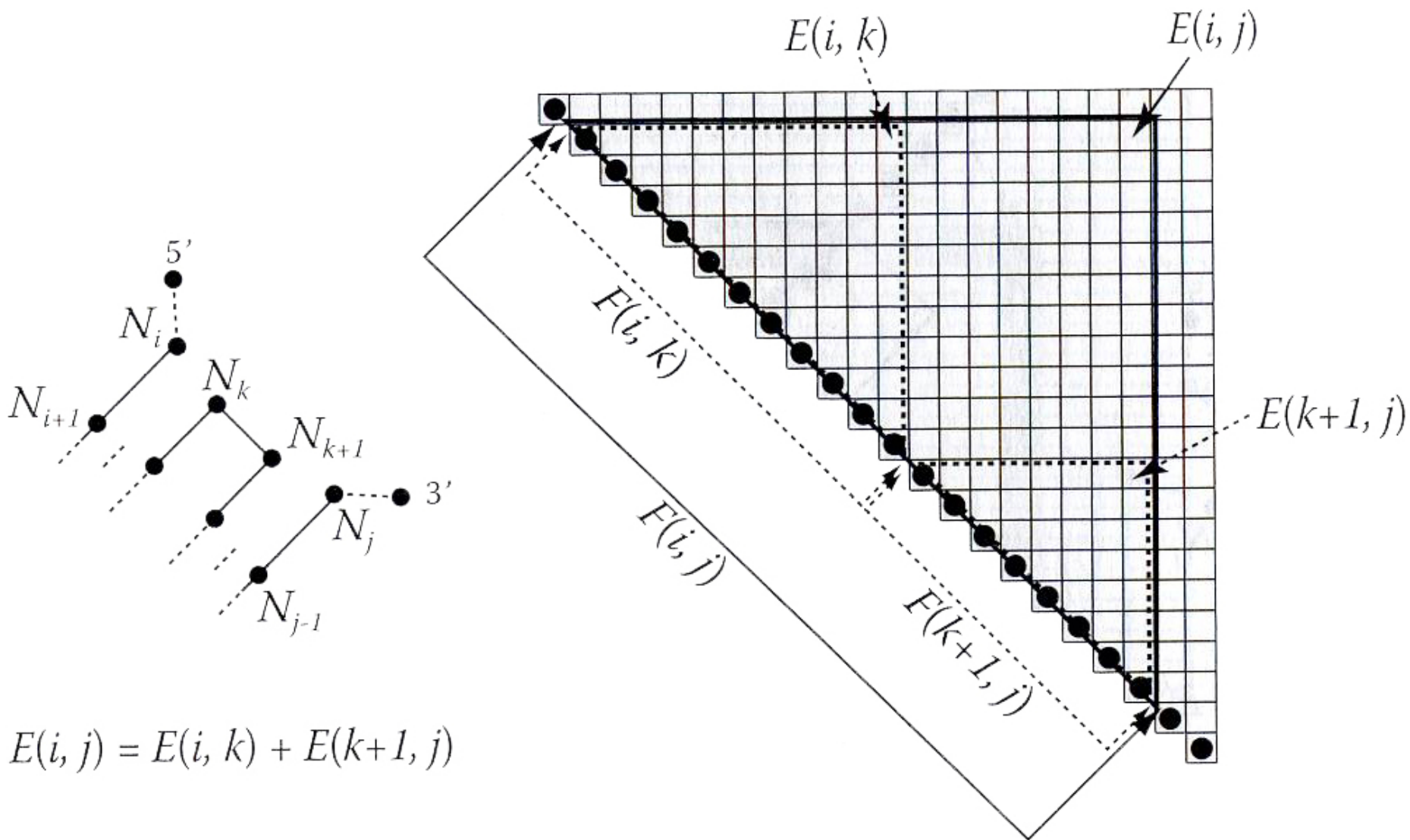
$$E(i, j) = E(i+1, j)$$



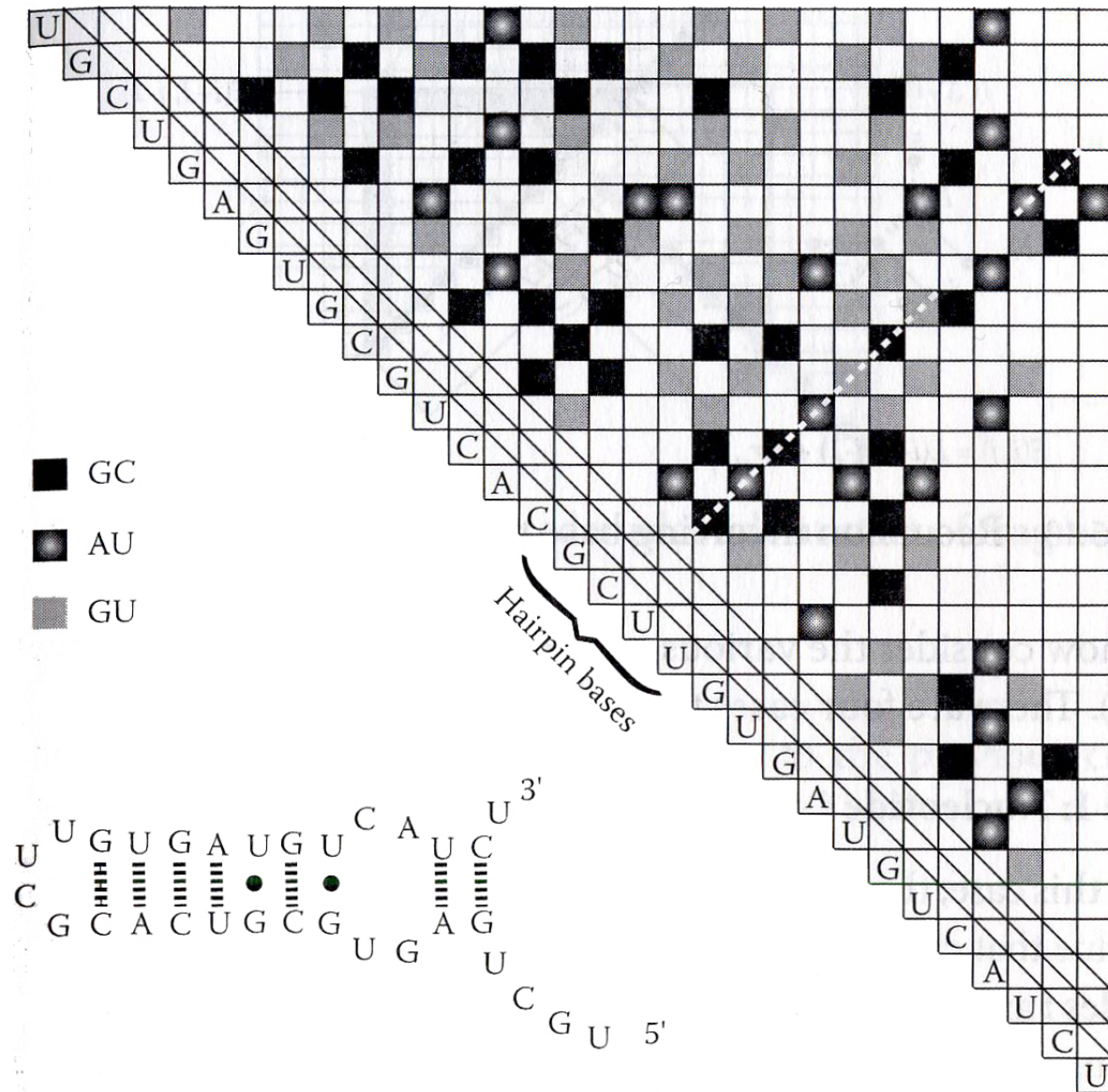


$$E(i, j) = E(i, j - 1)$$





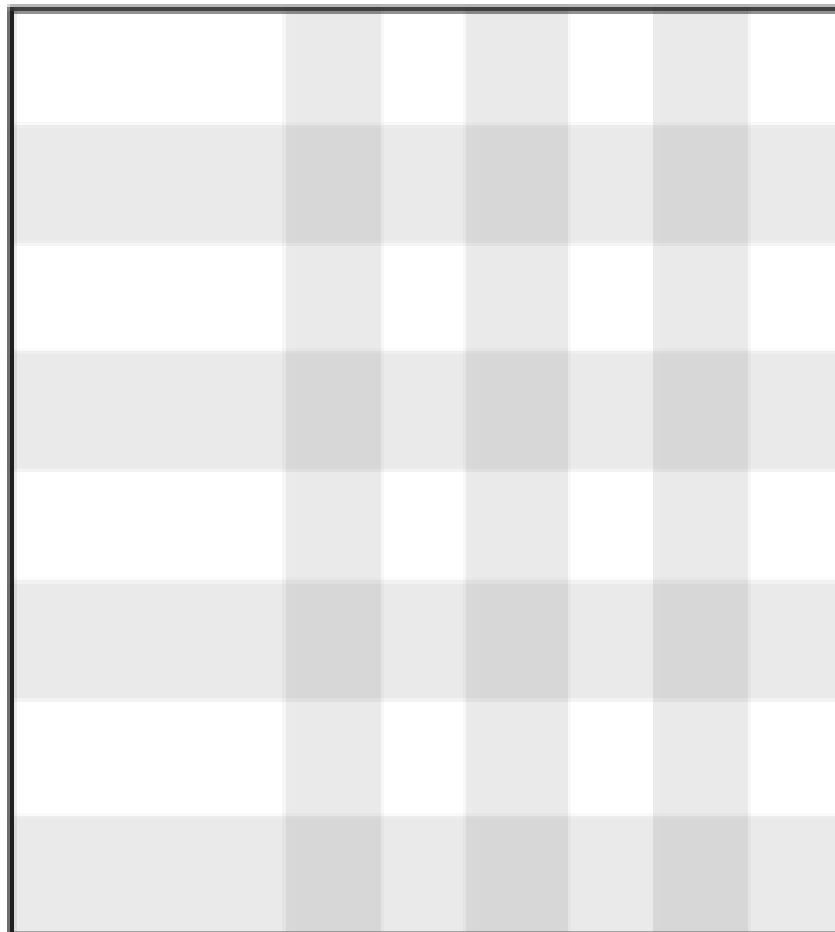
Tinoco Dot Plot für tRNA^{Phe}



DP-Beispiel: $\alpha(r_i, r_j)$ Werte

1 2 3 4 5 6 7 8

G C A C G A C G



G 1

C 2

A 3

C 4

G 5

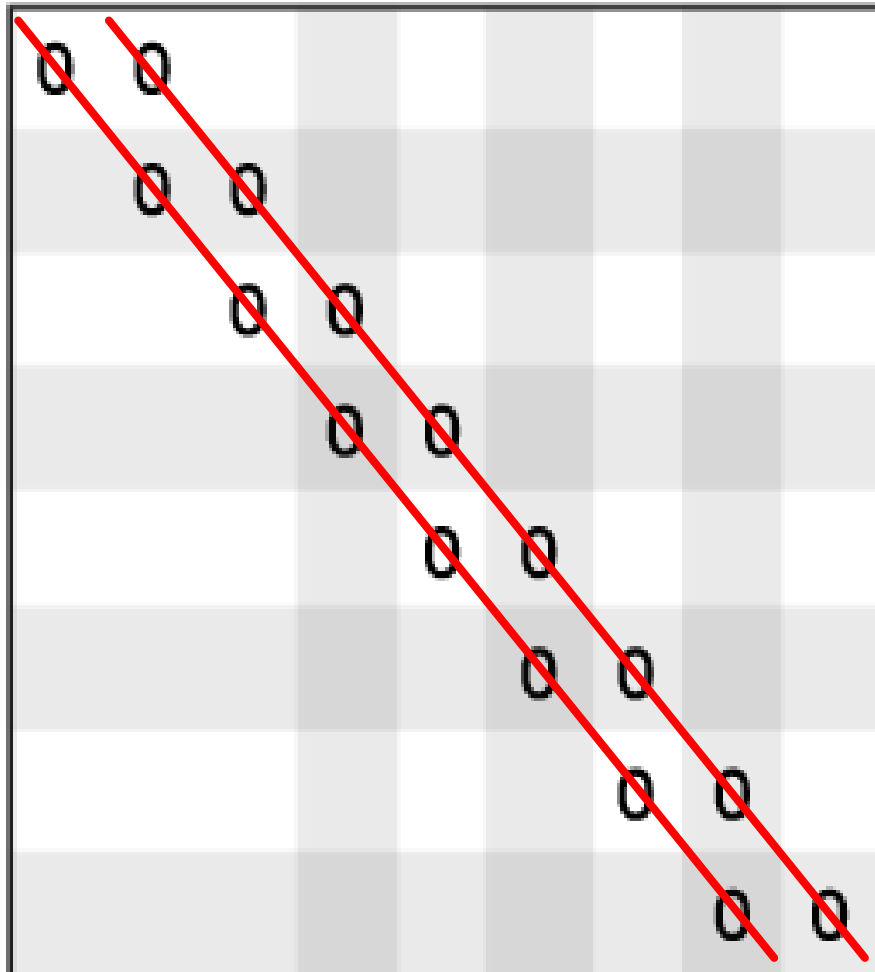
A 6

C 7

G 8

```
// Initialize top diagonal of forbidden zone.  
for i := 1 to n-3 do E[i,i+3] := 0;
```

```
1 2 3 4 5 6 7 8  
G C A C G A C G
```



```
G 1  
C 2  
A 3  
C 4  
G 5  
A 6  
C 7  
G 8
```

```
// Initialize top diagonal of forbidden zone.
for i := 1 to n-3 do E[i,i+3] := 0;

// Initialize diagonal above forbidden zone.
for i := 1 to n-4 do E[i,i+4] := e(r[i],r[i+4]);
```

	1	2	3	4	5	6	7	8	
	G	C	A	C	G	A	C	G	
0	0	1	1	1	2	2	2	3	G 1
	0	0	0	0	1	1	1	2	C 2
		0	0	0	1	1	1	2	A 3
			0	0	1	1	1	2	C 4
				0	0	0	1	1	G 5
					0	0	0	1	A 6
						0	0	1	C 7
							0	0	G 8

```
// There are n-5 diagonals left to fill.
```

```
for d := 5 to n-1 do
```

```
  for i := 1 to n-d do
```

```
    j := i+d;
```

```
    case1E := E[i+1,j-1] + e(r[i],r[j]);
```

```
    case2E := E[i+1,j];
```

```
    case3E := E[i,j-1];
```

```
    case4E := highValue;
```

```
    // Case 4 starts at diagonal j = i + 9.
```

```
    if (j > i+9) then
```

```
      for k := i+4 to j-5 do
```

```
        temp := E[i,k] + E[k+1,j];
```

```
        if (temp < case4E) then
```

```
          case4E := temp;
```

```
          case[i,j].kval := k;
```

```
    min_E := highValue;
```

```
    if (case1E < min_E AND e(r[i],r[j]) < 0) then
```

```
      min_E := case1E;
```

```
      case[i,j].ID := "case1";
```

```
    if (case2E < min_E) then
```

```
      min_E := case2E;
```

```
      case[i,j].ID := "case2";
```

```
    if (case3E < min_E) then
```

```
      min_E := case3E;
```

```
      case[i,j].ID := "case3";
```

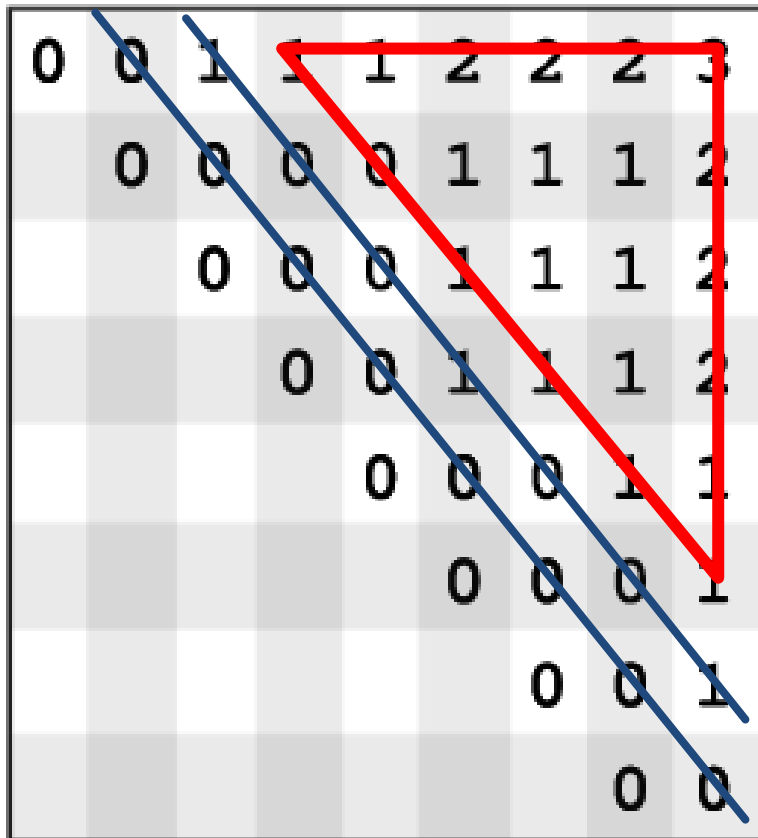
```
    if (case4E < min_E) then
```

```
      min_E := case4E;
```

```
      case[i,j].ID := "case4";
```

```
    E[i,j] := min_E;
```

```
1 2 3 4 5 6 7 8  
G C A C G A C G
```



```
G 1
```

```
C 2
```

```
A 3
```

```
C 4
```

```
G 5
```

```
A 6
```

```
C 7
```

```
G 8
```


E(i,j) Werte und Backtracking

1 2 3 4 5 6 7 8
G C A C G A C G

0	0	1	1	1	2	2	2	3
	0	0	0	0	1	1	1	2
		0	0	0	1	1	1	2
			0	0	1	1	1	2
				0	0	0	1	1
					0	0	0	1
						0	0	1
							0	0

G 1
C 2
A 3
C 4
G 5
A 6
C 7
G 8

```

get_SS(i,j)
    if (case[i,j].ID == "case1") then
        output i, j;
        get_SS(i+1, j-1);
    if (case[i,j].ID == "case2") then
        get_SS(i+1, j);
    if (case[i,j].ID == "case3") then
        get_SS(i, j-1);
    if (case[i,j].ID == "case4") then
        k = case[i,j].kval;
        get_SS(i, k);
        get_SS(k+1, j];
return;
    
```


Backtracking – Beispiel 1

G			0	0	3	6	6
	C			0	3	3	6
		G			0	3	3
			C			0	3
				G			0
					G		
						C	
							G

case 1

case 2

case 3

case 4

Backtracking – Beispiel 1

G			0	0	3	6	6
	C			0	3	3	6
		G			0	3	3
			C			0	3
				G			0
					G		
						C	
							G

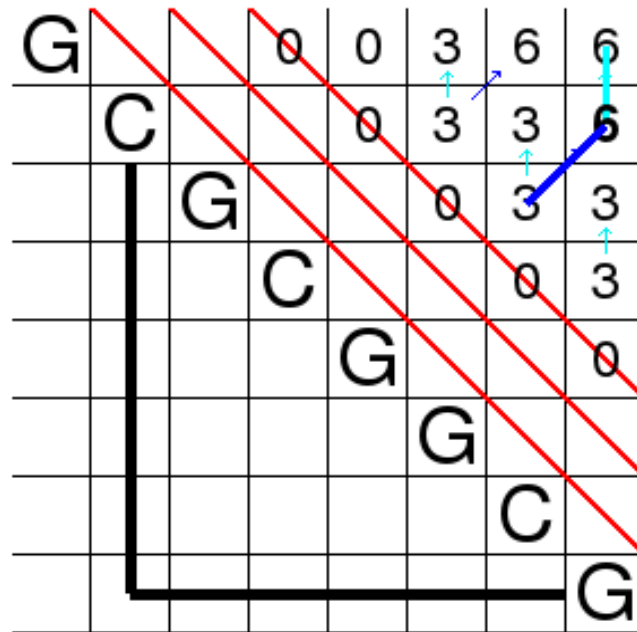
case 1

case 2

case 3

case 4

Backtracking – Beispiel 1



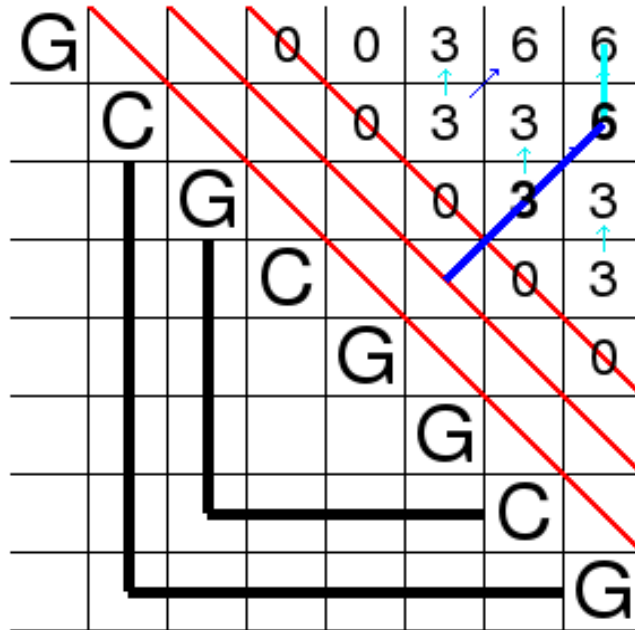
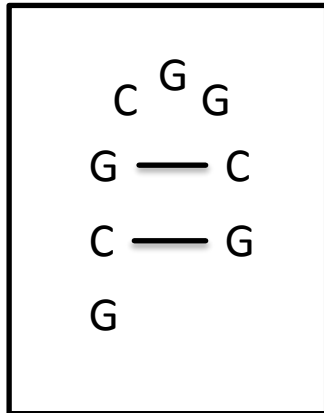
case 1

case 2

case 3

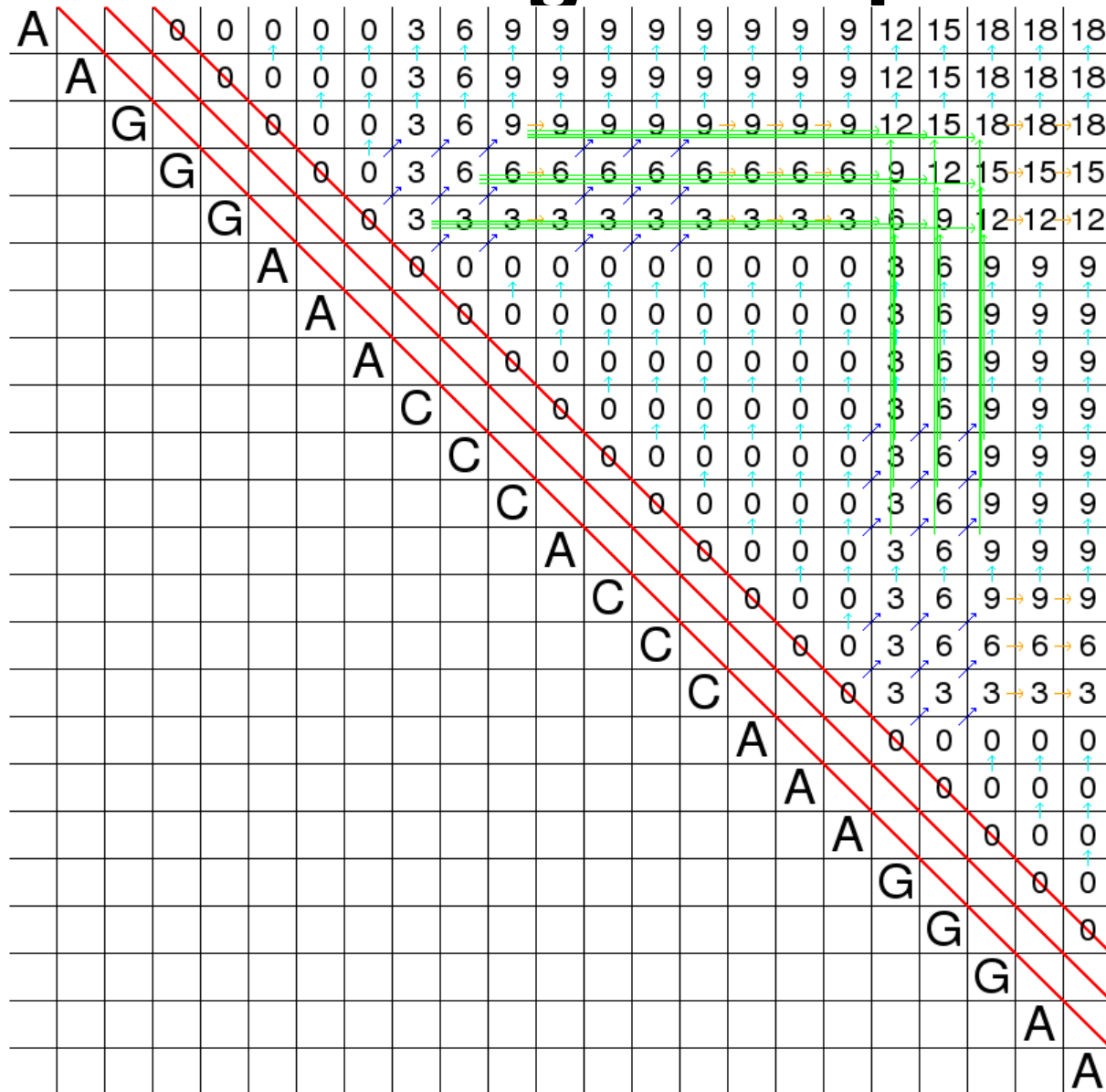
case 4

Backtracking – Beispiel 1



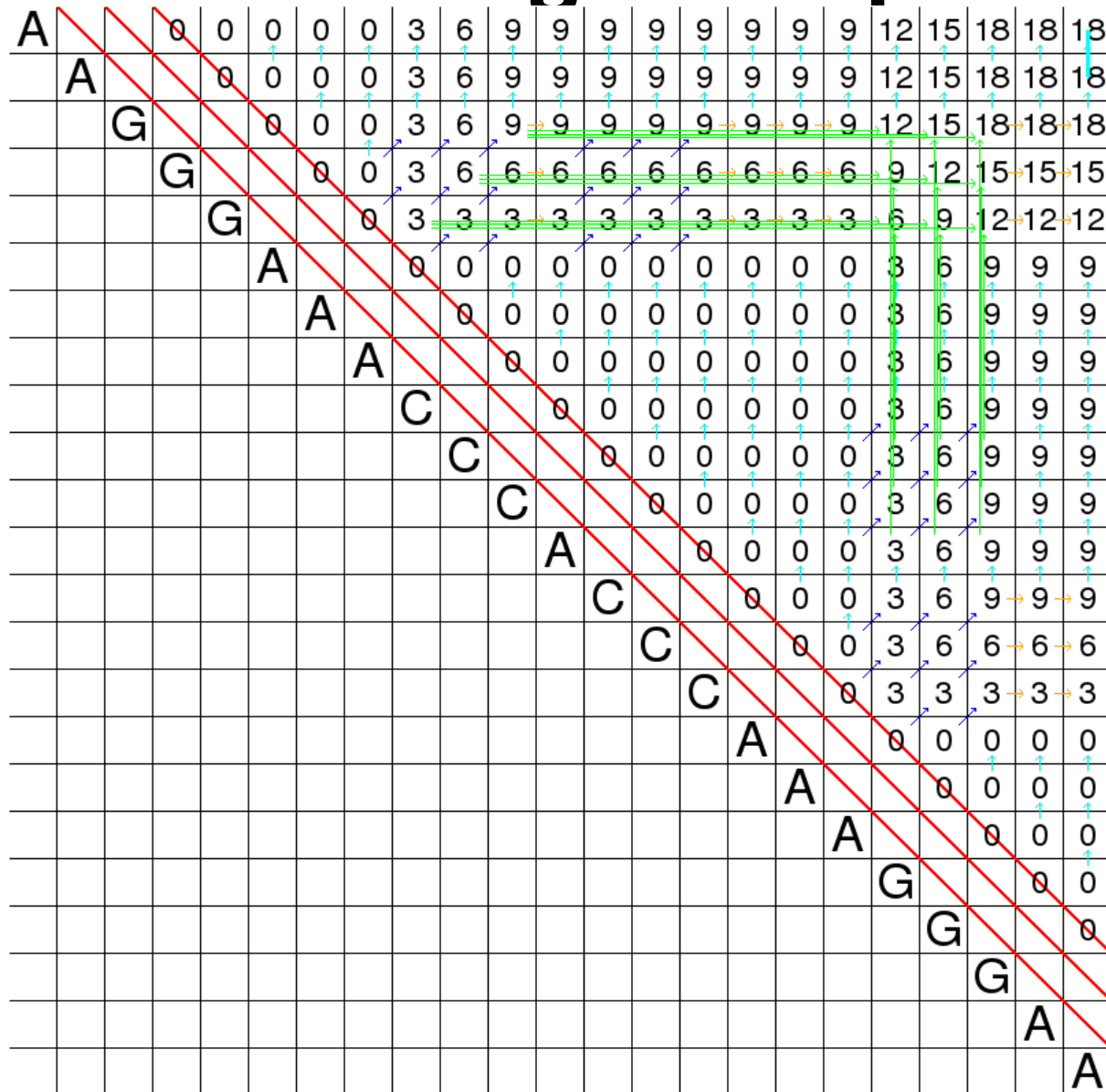
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



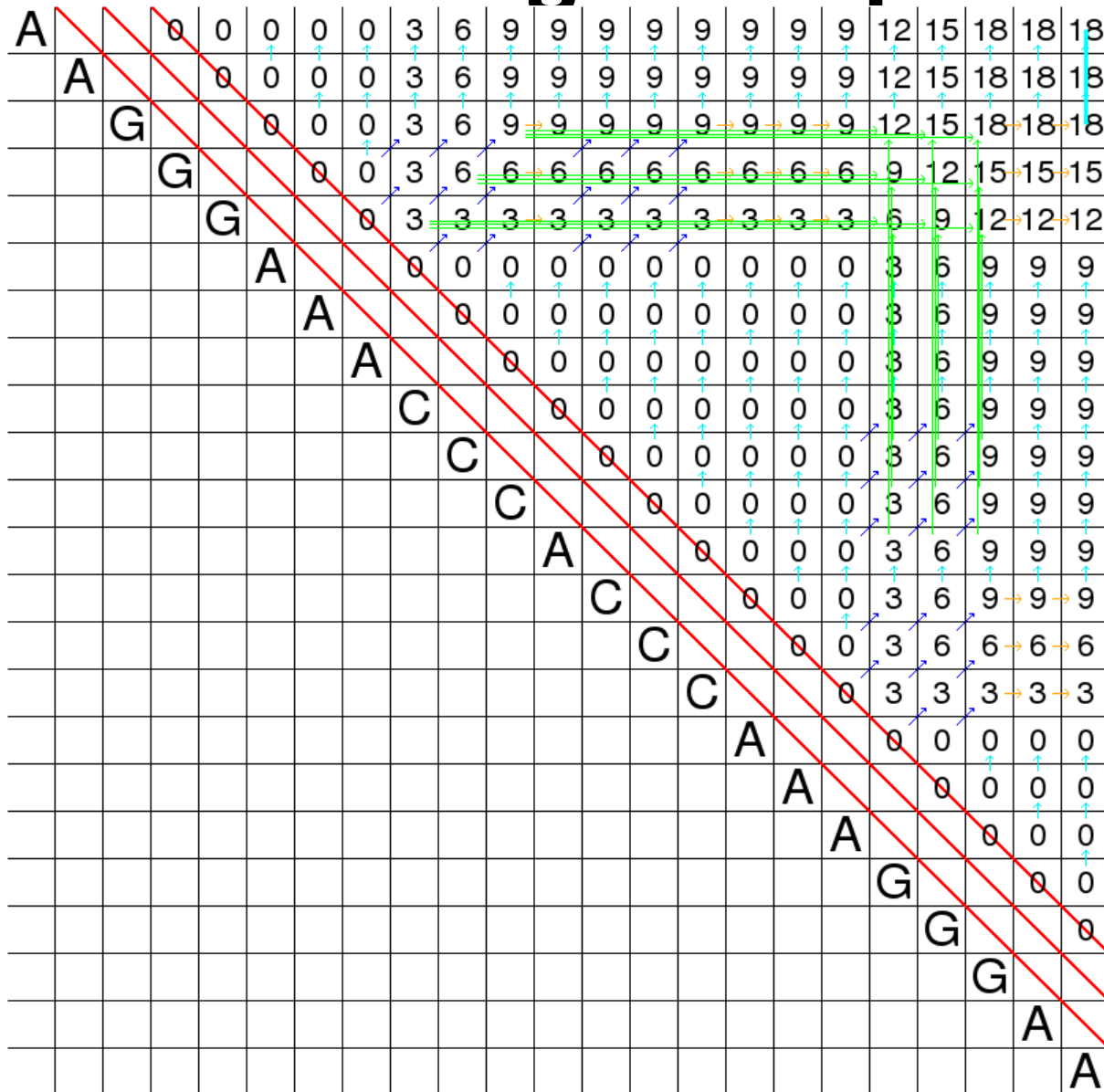
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



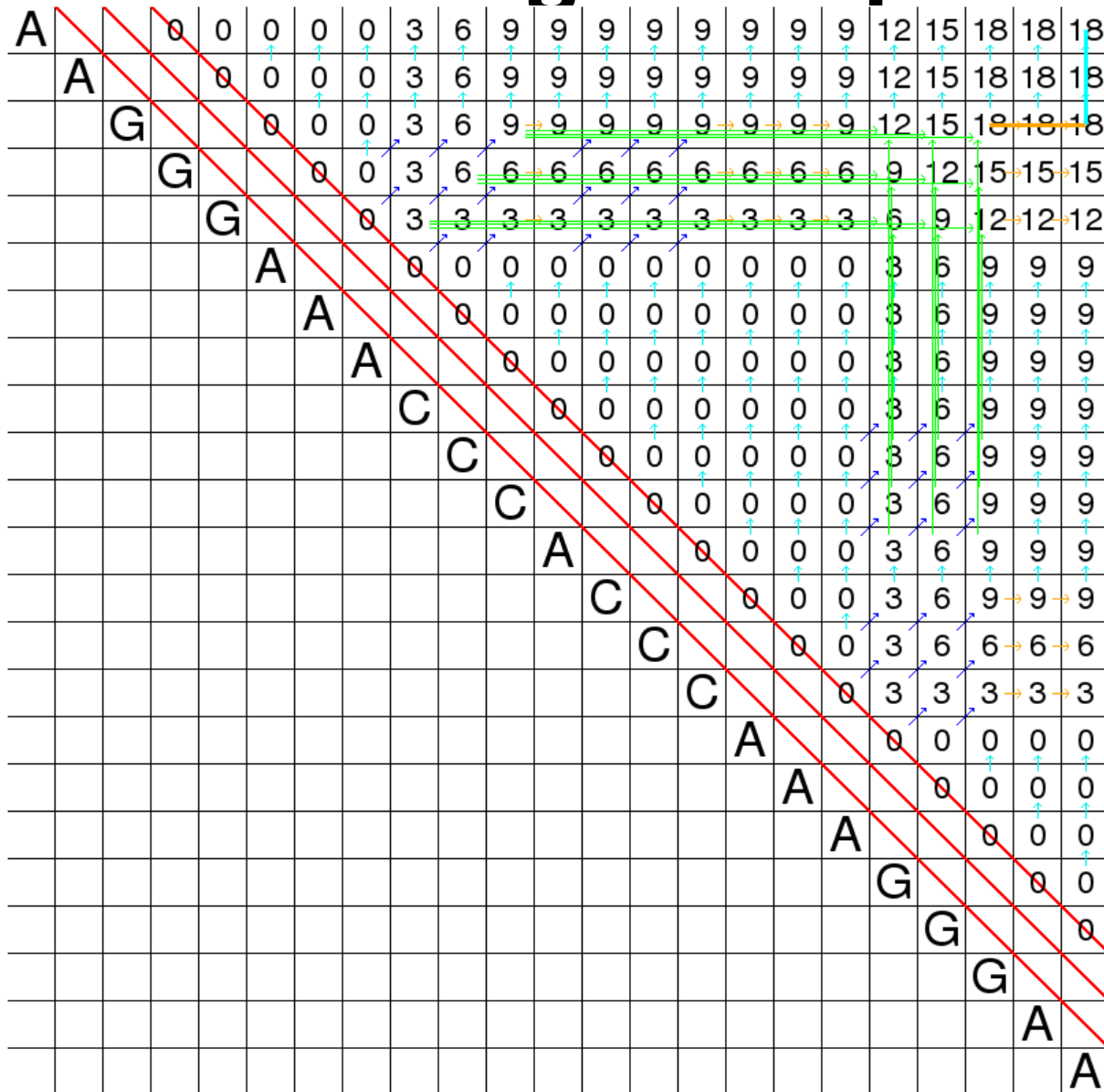
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



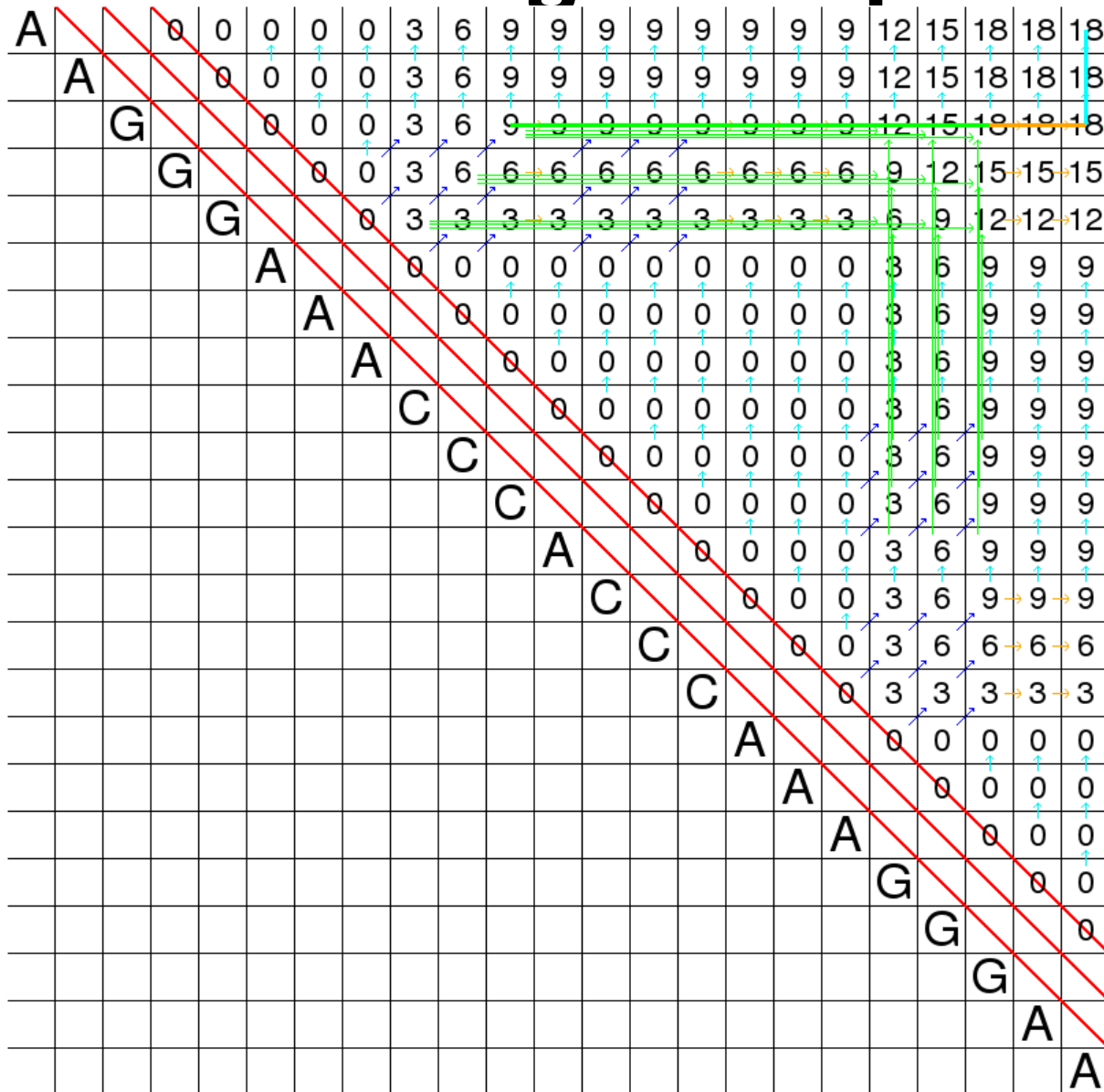
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



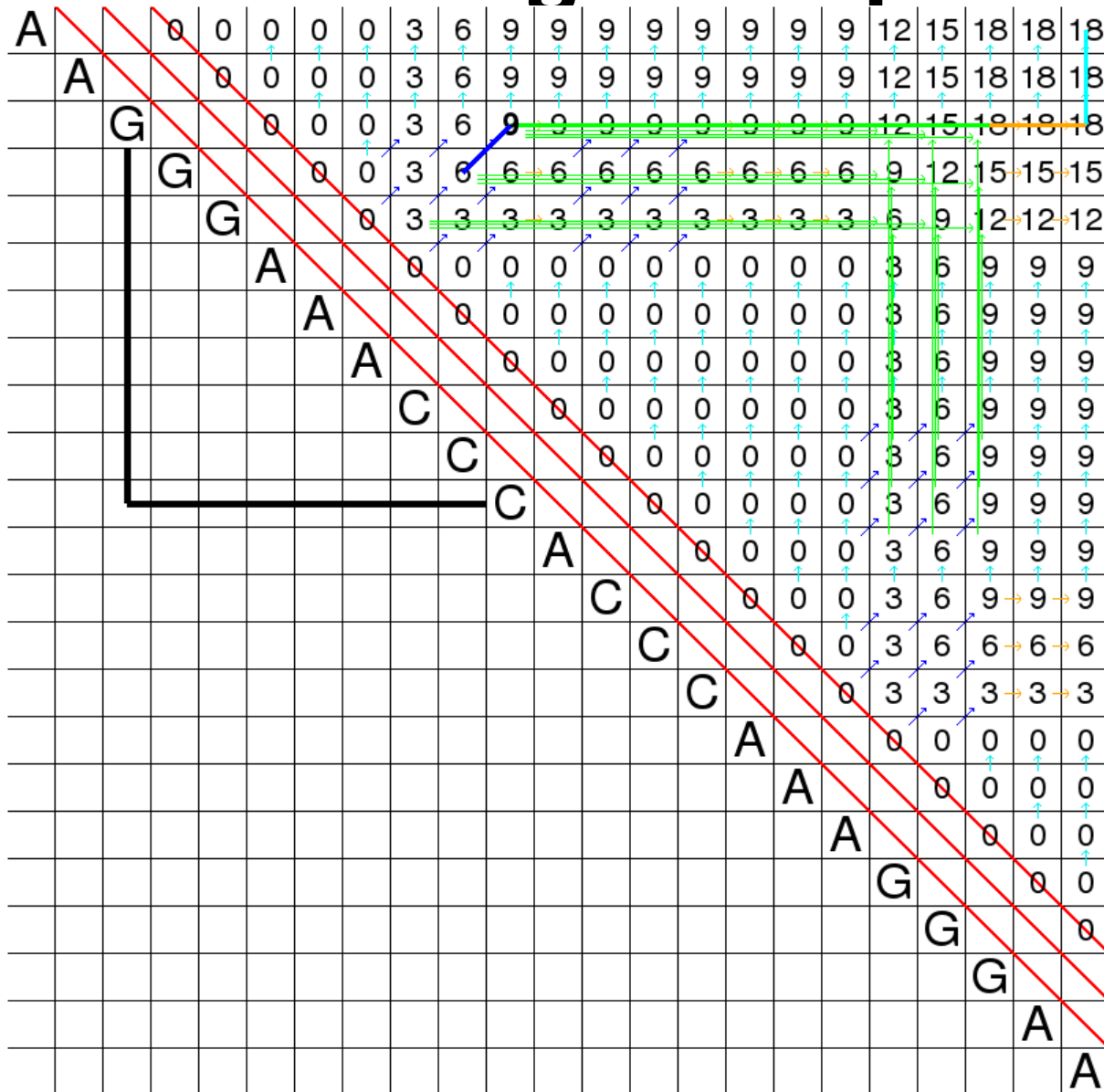
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



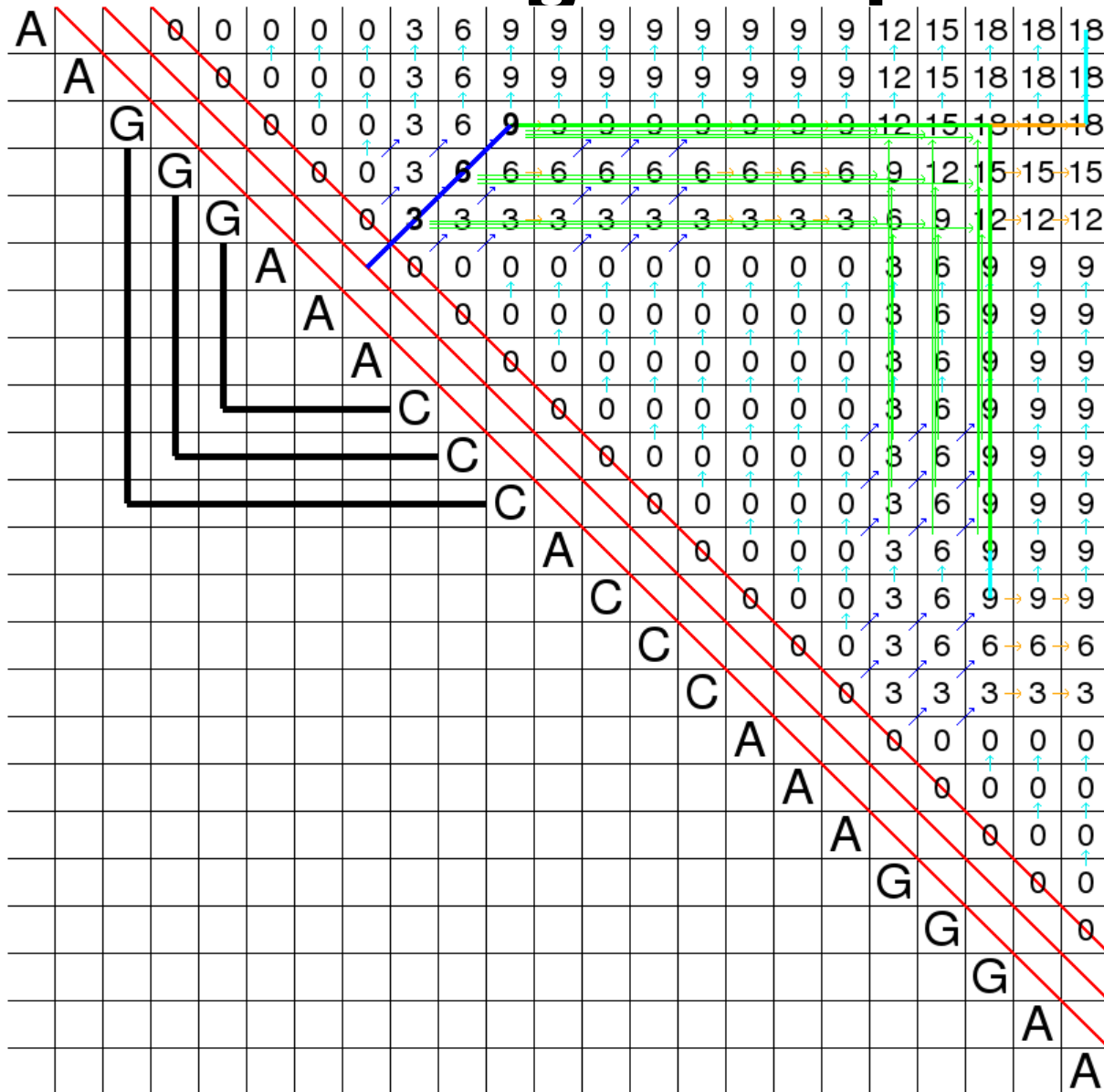
- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2

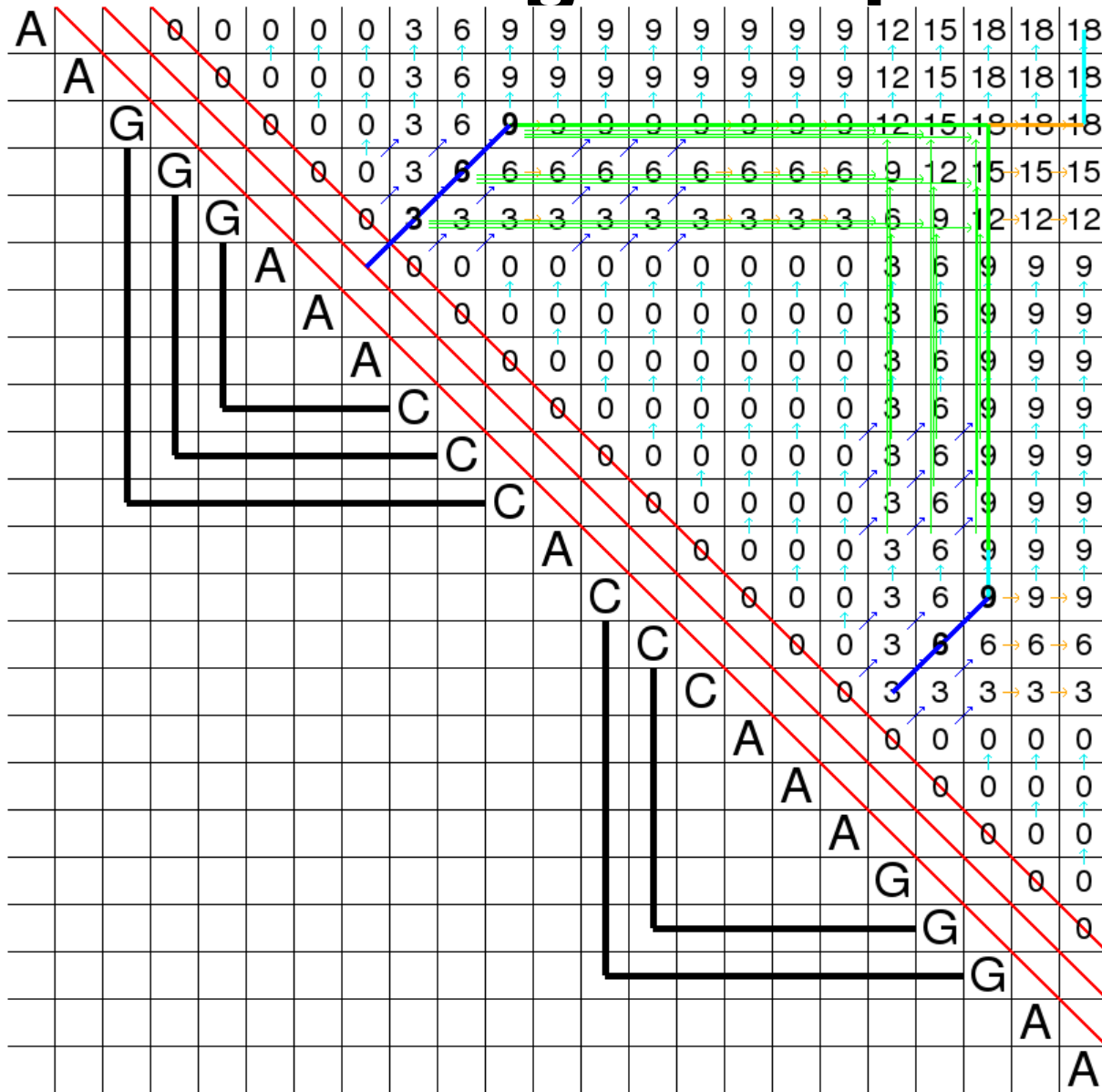


- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Backtracking – Beispiel 2



Backtracking – Beispiel 2



- case 1
- case 2
- case 3
- case 4

Vorhersage RNA Sekundärstruktur

- RNA Sequenz $R_{i,j}$
- $\alpha(r_i, r_j)$ liefert für jedes Basenpaar (r_i, r_j) dessen freie Energie
- $\alpha(r_i, r_j) < 0$ für kanonische Basenpaare
- $\alpha(r_i, r_j) = 0$ für $i=j$
- freie Energie $E(S)$ der Sekundärstruktur S :
$$E(S) = \sum_{(r_i, r_j) \in S} \alpha(r_i, r_j)$$
- freie Energie der Teil-Sekundärstruktur $S_{i,j}$ sei $E(S_{i,j})$

Vorhersage RNA Sekundärstruktur

$$E(S_{i,j}) = \min \left\{ \begin{array}{l} E(S_{i,j}) = 0 \text{ für } j-i < 4 \quad (0) \\ \alpha(r_i, r_j) + E(S_{i+1,j-1}) \quad (1) \\ E(S_{i+1,j}) \quad (2) \\ E(S_{i,j-1}) \quad (3) \\ \min_{i < k < j} \{E(S_{i,k-1}) + E(S_{k,j})\} \quad (4) \end{array} \right.$$

(0): verhindert, daß starke Biegungen auftreten

(1): Basenpaarung von r_i mit r_j gilt wegen Additivität der Energien; wird aus Summe der Energie für Basenpaarung r_i, r_j und der Energie für die Teil-Sekundärstruktur $E(S_{i+1,j-1})$ berechnet

(2): Base r_i geht mit keiner Base aus $R_{i,j}$ eine Basenpaarung ein

(3): Base r_j geht mit keiner Base aus $R_{i,j}$ eine Basenpaarung ein

(4): Bifurkation; Basen r_i und r_j sind in zwei unterschiedlichen Teil-Sekundärstrukturen eingebunden