

Универзитет у Београду
Математички факултет



Лазар М. Васовић

Скривени Марковљеви модели у
биоинформатици – електронска лекција

мастер рад

Београд, 2021.

Ментор:

др Јована КОВАЧЕВИЋ, доцент
Универзитет у Београду, Математички факултет

Чланови комисије:

др Нина Радоличић МАТИЋ, доцент
Универзитет у Београду, Математички факултет

Александар ВЕЉКОВИЋ, асистент
Универзитет у Београду, Математички факултет

Датум одбране: 23. септембар 2021.

Наслов мастер рада: Скривени Марковљеви модели у биоинформатици – електронска лекција

Резиме: Скривени Марковљеви модели (*HMM*, према енгл. *Hidden Markov Model*) представљају стохастичке коначне аутомате са приватним (скривеним) стањима и јавним (опсервабилним) емисијама. Промене стања, које граде скривене путеве, као и приказ симбола, који чине опажања, заправо су два повезана статистичка процеса, чији се однос моделује. Примене ових модела су разнородне, како у решавању проблема надгледаног, тако и ненадгледаног машинског учења над секвенцијалним подацима (нпр. временским серијама), попут класификације протеина и проналажења гена у биоинформатици. Израђена је електронска лекција која покрива тему *HMM* као биоинформатичку наставну јединицу. Лекција се састоји из детаљног теоријског дела и пратећих имплементација алгоритама неопходних за рад са *HMM*. Излагање започиње описом мотивационих проблема проналажења гена у ДНК секвенци, класификације протеина на примеру одређивања типа изолата ХИВ-а, као и додатног проблема непоштене коцкарнице. У наставку су, анализом уведеног проблема казина, размотрене и реализоване могућности скривених Марковљевих модела, попут декодирања (Витербијев алгоритам) и израчунавања вероватноће опажања (алгоритам „напред“). Након тога, приказано је како се дефинисани и имплементирани модел може искористити за решавање изложених проблема, конкретно проналажењем *CG* острва (*CpG* места) и употребом профилних *HMM* (*HMM* профила). Напослетку је описана и могућност учења параметара модела на основу опажања, такође уз пратеће имплементације (алгоритам „напред-назад“, Витербијево и Баум-Велчово учење). Лекција је реализована у виду интерактивне *Jupyter* свеске са *Python* кодовима, која је јавно доступна на *GitHub*-у. Направљена је и *HTML* верзија материјала исте садржине, како би лекцији могло да се приступи и само преко прегледача веба, без потребе за *Jupyter* сервером или *Python* интерпретатором.

Кључне речи: биоинформатика, скривени Марковљеви модели (*HMM*), електронска лекција, *CG* острва (*CpG* места), профилни *HMM* (*HMM* профили)

Садржај

1 Увод	1
2 Мотивација	4
2.1 Погађање фенотипа	4
2.2 Потрага за генима	7
2.3 Коцкање са јакузама	9
2.4 Додатни проблеми	11
3 Моделовање	14
3.1 Дефиниција модела	14
3.2 Могућности модела	17
3.3 Надградња дефиниције	20
3.4 Витербијев алгоритам	23
3.5 Алгоритам „напред“	28
4 Биолошки значај	33
4.1 Гени – два стања	33
4.2 Гени – више стања	37
4.3 Профилни модели	43
4.4 Рад са профилима	52
5 Учење модела	64
5.1 Витербијево учење	64
5.2 Баум-Велчово учење	68
6 Закључак	73
Библиографија	75

Глава 1

Увод

Биоинформатика је интердисциплинарна област која се бави применом рачунарских технологија у области биологије и сродних наука, са нагласком на разумевању биолошких података. Кључна особина јој је управо поменута мултидисциплинарност, која је илустрована дијаграмом са слике 1.1.



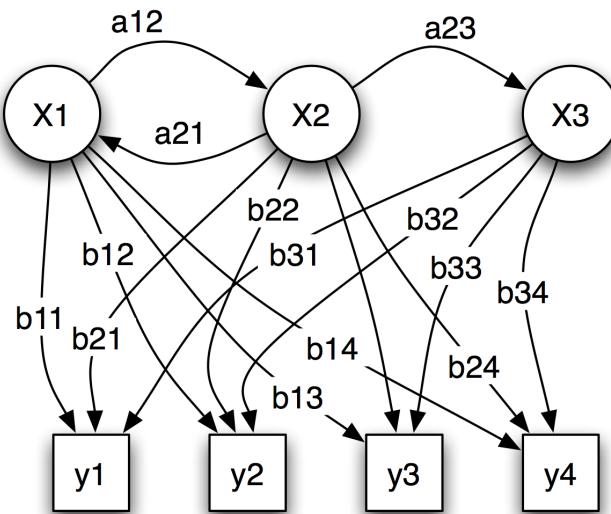
Слика 1.1: Венов дијаграм интердисциплинарности

Овако представљена, биоинформатика је заправо спој статистике, рачунарства и биологије – сва три истовремено – по чему надилази појединачне спојеве: биостатистику, научу о подацима и рачунарску биологију. Кон-

ГЛАВА 1. Увог

кретно, статистички (математички) апаратат служи за рад са подацима, рачунарске технологије тај апарат чине употребљивијим, док биологија даје потребно доменско знање (разумевање) за рад са биолошким и сродним подацима. Иако се може рећи да је биоинформатика, у савременом смислу представљеном приказаним дијаграмом, релативно млада наука, брзо је постала популарна и многи су јој посветили пажњу или се њоме баве [1].

Скривени Марковљев модел (у наставку углавном скраћено *HMM*, према енгл. *Hidden Markov Model*) представља вероватносни модел који се састоји из следећих елемената: скривених стања (x_i), опсервација (y_i), вероватноћа прелаза (a_{ij}), полазних (π_i) и излазних вероватноћа (b_{ij}), по примеру са слике 1.2. *HMM* се тако може схватити као коначни аутомат, при чему стања задржавају уобичајено значење, док вероватноће прелаза описују колико се често неки прелаз реализује. Полазне вероватноће одређују почетно стање. Овакав аутомат допуњује се идејом да свако стање са одређеном излазном вероватноћом емитује (приказује) неку опсервацију. Штавише, најчешће су само опажања и позната у раду са *HMM*, док се позадински низ стања погађа („предвиђа”), па се управо зато стања и модели називају скривеним [32].



Слика 1.2: Једноставан пример скривеног Марковљевог модела¹

¹Tdunning. File:HiddenMarkovModel.png. Wikimedia Commons, илустрација са Викимедије: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HiddenMarkovModel.png>.

ГЛАВА 1. Увод

Циљ овог рада је спајање претходно уведених појмова – биоинформатике и скривених Марковљевих модела. Замисао је, дакле, детаљна обрада теоријских и практичних аспеката *HMM*, као и приказ примера њихове примене у биоинформатици. Поред писаног рада, предвиђена форма је и електронска лекција, која би касније била део ширег електронског уџбеника из биоинформатике. Идеја уџбеника је да буде комплетно наставно средство из ове области, које се може користити у разним облицима наставе (предавања, вежбе), али и за припрему испита или једноставно упознавање са појмом *HMM*.

Теоријски увод је заснован на књизи *Bioinformatics Algorithms: An Active Learning Approach* [17] аутора Филипа Компоа (*Phillip Compeau*) и Павела Певзнера (*Pavel Pevzner*), која се користи као уџбеник на вишем од сто светских факултета, међу којима је и Математички факултет Универзитета у Београду [2]. У тексту су објашњени, а у лекцији и имплементирани, сви алгоритми који су представљени у књизи, али и многи други. Резултат је *Jupyter* свеска са *Python* кодовима, која је јавно доступна на *GitHub*-у [6].

Глава 2

Мотивација

У овој глави изложена је мотивација за употребу скривених Марковљевих модела у биоинформатици. Конкретно, представљена су два важна биолошка проблема која се њима могу решити и пратећи појмови из домена, као и једна историјски мотивисана вероватносна мозгалица.

2.1 Погађање фенотипа

ХИВ је вирус хумане имунодефицијенције, један од најпознатијих вируса, који заражава људе широм света. Својим дугорочним деловањем доводи до смртоносног синдрома стечене имунодефицијенције, познатијег као сида или *AIDS*. Мада поједини аутори распострањеност ХИВ-а називају пандемијом, Светска здравствена организација означава је као „глобалну епидемију“ [3].

Постојање ХИВ-а званично је потврђено почетком осамдесетих година двадесетог века, мада се претпоставља да је са примата на људе прешао знатно раније. Недуго по овом открићу, тачније 1984, из америчког Министарства здравља и услуга становништву најављено је да ће вакцина бити доступна кроз наредне две године. Готова вакцина, међутим, ни данас није доступна, а многи покушаји су отказани након што се испоставило да вакцине кандидати чак повећавају ризик од инфекције код појединих испитаника.

Антивирусне вакцине најчешће се праве од површинских протеина вируса на који се циља, у нади да ће имунски систем, након вакцине, у контакту са живим вирусом знатно брже препознати протеине омотача вируса као стране и уништити их пре него што се вирус намножи у телу. ХИВ је, међутим, карактеристичан по томе што врло брзо мутира, па су његови протеини изу-

ГЛАВА 2. Мотивација

зетно варијабилни и није лако научити имунски систем да исправно одреагује на све мутације. Штавише, може се десити да имунитет научи да исправно реагује само на једну варијанту вируса, а да реакција нема ефекта на остале варијанте. Овакав имунитет је лошији од имунитета који ништа не зна о вирусу, пошто не покушава да научи ништа ново, што је разлог већ поменуте ситуације да су код неких испитаника вакцине кандитати повећали ризик од заразе. Да ствар буде гора, ХИВ брзо мутира и унутар једне особе, тако да је разлика у узорцима узетих од различитих пацијената увек значајна.

Када се све узме у обзир, као обећавајућа замисао за дизајн свеобухватне вакцине намеће се следећа идеја: идентификовати неки пептид који садржи најмање варијабилне делове површинских протеина свих познатих сојева ХИВ-а и искористити га као основу вакцине. Ни то, међутим, није решење, пошто ХИВ има још једну непогодну способност: уме да се скрије процесом гликозилације. Наиме, протеини омотача су махом гликопротеини, што значи да се након превођења за њих могу закачити многобројни гликански (шећерни) ланци. Овим процесом долази до стварања густог гликанског штита, који омета имунски систем у препознавању вируса. Све досад изнето утиче на немогућност прављења прикладне вакцине у скоријем времену.

Чак и ван контекста вакцине, мутације ХИВ-а прилично су занимљиве за разматрање. Конкретно, илустративно је бавити се *env* геном, чија је стопа мутације 1–2% по нуклеотиду годишње. Овај ген кодира два релативно кратка гликопротеина који заједно граде шиљак (спајк) омотача, део вируса задужен за улазак у људске ћелије. Мање важан део шиљка је гликопротеин *gp41* (~ 345 аминокиселина), док је важнији гликопротеин *gp120* (~ 480 аминокиселина). О варијабилности другог говори чињеница да на нивоу једног пацијента, у кратком року, скоро половина аминокиселина буде изменењена позадинским мутацијама одговарајућег гена, као да је сасвим други протеин.

Проблематика је још занимљивија када се, поред генотипа вируса, разматра и његов фенотип. На примеру ХИВ-а, након уласка у људску ћелију, гликопротеини омотача код неких изолата могу да изазову спајање заражене ћелије са суседним ћелијама. Резултат тога је синцијум – нефункционална вишеједарна ћелијска (цитоплазматична) маса са заједничком ћелијском мембрраном. Према тој могућности сваки конкретни вирус може се означити као изолат који ствара синцијум или као изолат који га не ствара. Прва група се тим процесом знатно брже умножава, што даље значи да је опаснија и

ГЛАВА 2. Мошивација

агресивнија, јер уласком у само једну ћелију убија многе друге у суседству. Одређивање тачног генотипа и погађање фенотипа важно је како би се пацијенту преписао најприкладнији коктел антивирусних лекова.

Испоставља се да је примарна структура гликопротеина *gp120* важан суштински генотипски предиктор фенотипа ХИВ-а. Наиме, узимајући у обзир само низ аминокиселина које чине *gp120*, може се направити једноставан класификатор који погађа да ли проучавани изолат ствара синцизијум или не. Конкретно, научник Жан Жак де Јонг је 1992. анализирао вишеструкото поравнање такозване *V3* петље, издвојеног региона у оквиру *gp120*, и формулисао правило 11/25 [23]. Према том правилу, сој ХИВ-а највероватније ствара синцизијум уколико му се на 11. или 25. позицији у *V3* петљи налазе аминокиселине аргинин (*R*) или лизин (*K*). Пример мотива *V3* петље дат је на слици 2.1. Приметно је да су управо 11. и 25. позиција међу најваријабилнијим, те да удео критичних *R* и *K* на њима није претерано велик. Наравно, на фенотип утичу и многе друге позиције унутар *gp120* и других протеина.



Слика 2.1: Мотив *V3* петље из књиге [17] генерисан алатором *WebLogo*¹

За крај и поенту уводног текста о ХИВ-у, остаје неразрешен још један веома значајан проблем. Како би се уопште разматрало предвиђање фенотипа на основу примарне структуре *gp120*, неопходно је прво доћи до прецизног вишеструког поравнања различитих секвенци аминокиселина. Прво, поравнање мора бити хируршки прецизно, јер нпр. само једна грешка доводи до погрешног податка која вредност је на 11. и 25. позицији *V3* петље. Следеће, неопходно је адекватно обрадити инсерције и делеције, што су врло честе мутације ХИВ-а у многим регионима генома. На крају, потребно је на прави начин оценити квалитет поравнања, нпр. коришћењем различитих матрица скора за сваку појединачну позицију. Ово је донекле могуће решити једноставним алгоритмима за поравнање секвенци, попут оног за израчунавање

¹WebLogo, Version 2.8.2 (2005-09-08). Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, апликација за илустрацију мотива: <https://weblogo.berkeley.edu/>.

ГЛАВА 2. Мотивација

едит растојања, али уз два главна проблема: овакви алгоритми динамичког програмирања су често велике сложености и са мање слободе код скорова, а притом не пресликају најбоље суштину биолошког проблема класификације фенотипа у алгоритамски проблем (недостају кораци након поравнања). Постоји, dakле, потреба за новом формулацијом која обухвата све што је потребно за статистички потковано поравнање секвенци.

2.2 Потрага за генима

Познато је да геном чини тек мали део ДНК секвенце. Другим речима, већина нуклеотида ДНК не кодира протеине. Стога је један од важних биолошких проблема управо проналажење места на којима се гени налазе. Прецизније, тражи се место где њихово преписивање (транскрипција) започиње.

Почетком двадесетог века, Фибус Левин открио је да ДНК чине четири нуклеотида [30], чији су главни део азотне базе: аденин (A), цитозин (C), гуанин (G) и тимин (T). У то време, међутим, није била позната тачна структура наследног материјала, што је двострука завојница, коју су пола века касније открили Вотсон и Крик [39]. Левин је, стога, сматрао да ДНК носи информације једнаке било којој четворословној азбуци, а додатно и да је удео сваког од четири нуклеотида једнак. Занимљивост је да овај упрошћени модел одговара стању у савременој биоинформатици – ДНК се углавном и посматра као секвенца нуклеотида, односно ниска над азбуком $\{A, C, G, T\}$.

Открићем тачне структуре допуњена је теза о једнаком уделу нуклеотида. Како су нуклеотиди на супротним ланцима упарени, њихов удео јесте врло сличан када се посматра целокупна ДНК. То, међутим, није случај када се посматра само један ланац, што је уобичајено у генетици и биоинформатици. Примера ради, удео гуанина и цитозина, који чине један базни пар, код људи је 42%, што је ипак статистички значајно мање од пола. На вишем нивоу гранулације, у случају да се посматрају само по две суседне базе, испоставља се да динуклеотиди CC , CG , GC , GG заузимају сасвим различите уделе. Конкретно, иако би се очекивало да, под претпоставком равномерне расподеле, сваки од њих заузима удео 4–5%, динуклетид CG чини само 1% људског генома. Све ово значи да је ДНК секвенца ипак нешто даље од случајне.

Поставља се питање зашто је удео CG тако мали. Одговор, међутим, није комплексан, поготову ако се додатно примети да је удео TG нешто виши од

ГЛАВА 2. Мотивација

очекиваног, а посебно у регионима у којима је удео *CG* изразито мали. Разлог томе лежи у метилацији, најчешћој измени која природно настаје унутар ДНК. Поједини нуклеотиди, наиме, могу бити нестабилни, па се на њих лако везује метил група (CH_3). Међу најнеустабилнијим управо је цитозин иза ког следи гуанин, дакле *C* из *CG*. Метиловани цитозин даље се често спонтано десминује у тимин, чиме динуклеотид *CG* лако постаје *TG*. Свеукупни резултат је да се *CG* глобално појављује веома ретко, а *TG* нешто чешће.

Метилација мења експресију суседних гена. Експресија оних гена чији су нуклеотиди у великој мери метиловани често је смањена. Иако је сам процес метилације важан у току ћелијске диференцијације – доприноси неповратној специјализацији матичних ћелија – углавном није пожељан у каснијем добу. Хиперметилација гена повезана је са различитим врстама рака. Стога је метилација врло ретка око гена, што значи да је на тим местима динуклеотид *CG* знатно чешћи. Овакви делови ДНК називају се *CG* острвима или *CpG* местима. Разлика у уделу динуклеотида у некодирајућим и регионима богатим генима представљена је кроз табелу 2.1.

Удео динуклеотида у једном ланцу људског *X* хромозома

Табела 2.1: – лево у регионима *CG* острва, а десно ван њих [17];
разлика у уделу *CG* наглашена је црвеном бојом

	A	C	G	T	A	C	G	T
A	0,053	0,079	0,127	0,036	0,087	0,058	0,084	0,061
C	0,037	0,058	0,058	0,041	0,067	0,063	0,017	0,063
G	0,035	0,075	0,081	0,026	0,053	0,053	0,063	0,042
T	0,024	0,105	0,115	0,050	0,051	0,070	0,084	0,084

Закључак је, дакле, да се проблем потраге за генима може свести на проналажење *CG* острва. Наиван приступ потрази је употреба клизећег прозора. Узима се прозор фиксне величине и помера кроз ДНК секвенцу. Прозори (позиције прозора) са натпросечним уделом *CG* јесу кандидати за *CG* острва. Остаје, међутим, питање како одредити добру величину прозора, али и шта радити када преклапајући прозори (клизећи прозори који садрже исте поднизове) нуде различиту класификацију подниза. И овде би корисније било статистички потковано решење, које би отклонило наведене недоумице.

2.3 Коцкање са јакузама

Јакузе су припадници истоимене криминалне организације, традиционалног синдиката организованог криминала. Савремене јакузе потичу од јапанских путујућих коцкара, који су били распострањени у осамнаестом веку. Једна од најпознатијих игара коју су путујући коцкари организовали у својим импровизованим коцкарницама био је чо-хан (јап. 丁半, *chō-han*), у дословном преводу „пар-непар“ [33]. Игра је сасвим једноставна – претеча јакуза (крупије) баца две коцкице, док се играчи кладе да ли ће збир бити паран или непаран. Игра је такође поштена – једнако се остварују оба исхода парности.

До занимљивог тренутка долази када се из било ког разлога осетно више играча опклади на један од два могућа резултата. Тада би имало смисла да похлепни крупије, који узима проценат улога губитника, у жељи да заради баца отежане коцкице, које ће са већом вероватноћом дати резултат који је добио мање опклада. Једноставности ради, уместо чо-хана је у наставку разматрана нешто простија игра бацања новчића. У њој крупије баца новчић, а играчи се кладе да ли ће пасти писмо или глава. Она је знатно лакша за анализу, а суштина је иста и доводи до статистички поткованог решења у претходним поднасловима изложених биолошких и сродних проблема.

Крупијева превара у овом случају могла би бити употреба отежаног новчића, код кога исходи нису равномерно расподељени. Нека је познато да крупије има два новчића: један праведан и један отежан тако да на главу пада трипут чешће него на писмо. Циљ је за одређени низ исхода одредити да ли је настао бацањем праведног или отежаног новчића. Пажљивијом анализом проблема, испоставља се да је питање „вара“ ли крупије лоше формулисано. Наиме, оба новчића могу да произведу било који низ исхода, па тако нпр. и отежани новчић може константно да пада на писмо. Иако дефинитивно није могуће са сигурношћу утврдити који је новчић коришћен, могуће је нешто слично и честоовољно добро – одредити који је вероватније коришћен.

Конкретно, нека је упитни новчић бачен одређени број пута, при чему је добијен низ исхода. Вероватноће исхода (H од енгл. *heads* – глава и T од енгл. *tails* – писмо) код праведног (F од енгл. *fair* – фер) и отежаног (B од енгл. *biased* – пристрасан) новчића могу се исказати следећим формулама:

$$P(H|F) = P(T|F) = \frac{1}{2}, P(H|B) = \frac{3}{4}, P(T|B) = \frac{1}{4}.$$

Како су бацања независни догађаји – претходни исходи ни на који начин не

ГЛАВА 2. Мотивација

утичу на наредне – вероватноћа да n бацања произведе низ исхода $x = x_1 \dots x_n$, од којих је пало k глава, јесте производ појединачних вероватноћа:

$$P(x) = \prod_{i=1}^n P(x_i) = P(H)^k \cdot P(T)^{n-k}.$$

Због тога вероватноћа сваког низа исхода код праведног новчића износи:

$$P(x|F) = \left(\frac{1}{2}\right)^k \left(\frac{1}{2}\right)^{n-k} = \frac{1}{2^n}.$$

С друге стране, вероватноћа низа исхода код отежаног новчића је:

$$P(x|B) = \left(\frac{3}{4}\right)^k \left(\frac{1}{4}\right)^{n-k} = \frac{3^k}{4^n}.$$

Уколико је $P(x|F) > P(x|B)$, онда је вероватније да је крупије баџао праведни новчић, док је у случају $P(x|F) < P(x|B)$ баџао отежани. Занимљиво је напоменути да ипак није лако израчунати бројеве $1/2^n$ и $3^k/4^n$ за велико n . Они су тада изразито мали, па је питање да ли би били добро представљени у рачунару, те да ли њихово поређење даје тачан резултат. Стога се израчунава логаритамски однос вероватноћа, који у конкретном случају износи:

$$\log_2 \left(\frac{P(x|F)}{P(x|B)} \right) = \log_2 \left(\frac{2^n}{3^k} \right) = n - k \log_2 3.$$

Овај број се већ без проблема израчунава и представља у рачунару. Конкретно, нека је $n = 100$ (сто бацања), а $k = 63$ (нешто већи удео глава). Тада је логаритамски однос приближно једнак 0,15. Позитивна вредност $\log(x/y)$ значи да је $x/y > 1$, односно $x > y$ у случају вероватноћа, које су по дефиницији ненегативне. Ово значи да је већа вероватноћа да је крупије баџао праведни новчић, иако је $k = 63$ интуитивно и по апсолутној вредности ближе $3/4 \cdot 100 = 75$ него $1/2 \cdot 100 = 50$. Негативан логаритамски однос довео би до супротног закључка. Алтернативно, како је неопходно одредити само знак израза $n - k \log_2 3$, то се може учинити поређењем n и $k \log_2 3$, односно $k/n = 0,63$ и $1/\log_2 3 \approx 0,6309$ након дељења k са обе вредности понаособ. Прва вредност је мања, па је однос позитиван, јер се посматрају реципрочне вредности.

Изложени вероватносни модел игре пада у воду када се узме у обзир могућност да крупије наизменично баџа праведни и отежани новчић. Наиме, искусни преварант могао би да смањи сумњу да користи отежани новчић тако

ГЛАВА 2. Мотивација

што би га понекад – додуше, ретко, како не би био ухваћен – заменио са праведним, и тако укруг. Поставља се питање како само на основу низа исхода и евентуално познате вероватноће промене новчића након сваког бацања одредити када је бачен праведни, а када отежани новчић. И овога пута, одговор може бити само несигурног типа – који новчић је у ком тренутку вероватније коришћен.

Слично као код проблема проналажења CG острва, потребно је на неки начин различите секвенце новчића упоредити и одредити која представља бољи одговор на постављено питање. И овде би наивно решење подразумевало употребу клизајућег прозора који би пролазио кроз све поднизове бацања. На нивоу прозора могли би се рачунати логаритамски односи, према којима би се даље одредило порекло прозора – позитиван однос сугерише да је прозор настало бацањем праведног новчића и супротно. Овакав приступ занемарује тачну вероватноћу замене новчића, мада имплицитно узима у обзир да је она мала.

Остају, међутим, већ поменути проблеми са прозорским приступом: како одредити добру величину прозора, као и шта радити када преклапајући прозори нуде различиту класификацију подниза. Примера ради, ако крупије наизменично баца два претходно описана новчића, а добијени низ исхода је $x = HHHHHTTHHHHTTTT$, онда прозор $x_1 \dots x_{10} = HHHHHTTHHH$ има негативан логаритамски однос, док је однос преклапајућег прозора $x_6 \dots x_{15} = TTHHHHTTTTT$ позитиван. Није јасно како одлучити који је новчић бацан у пресеку $x_6 \dots x_{10} = TTHHH$, односно у ком тренутку је тачно дошло до замене новчића, те да ли је замене уопште и било или је крупије поштен.

Још једном је јасно да би најбоље било осмислiti напредније статистички потковано решење за све досад изложене проблеме. То је и учињено у следећем поглављу, баш са претходно изложеним бацањем новчића као прилично једноставним, али ипак сасвим интуитивним мотивационим примером.

2.4 Додатни проблеми

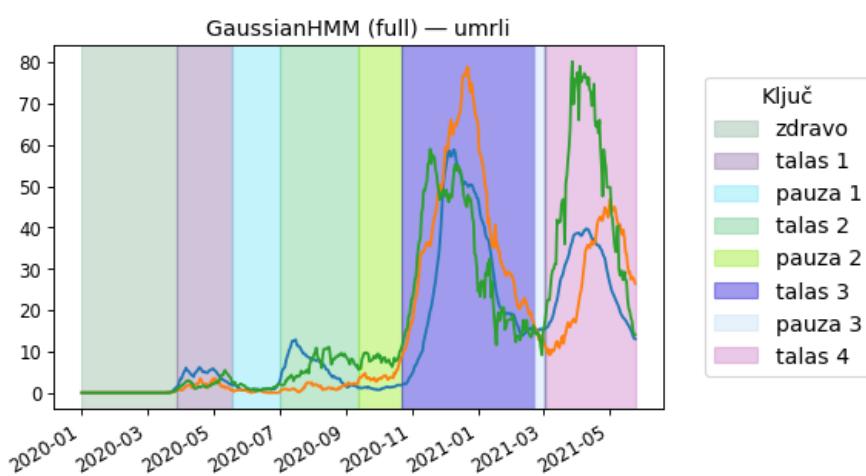
Досад су изложена два биолошка проблема за која је закључено да би добро било осмислiti статистички потковано решење: погађање фенотипа и потрага за генима. Први се своди на класификацију геномске секвенце (нпр. ХИВ-а) на основу познатих могућих исхода и њихових примера. Други се

ГЛАВА 2. Мошивација

своди на откривање *CG* острва, региона ДНК са високим уделом динуклеотида *CG*. Иако су ово два конкретна проблема из домена биологије, јасно је да би се жељено решење могло применити и на мноштво других сличних проблема, што укључује последњи пример са бацањем новчића.

Приметно је да је секвенцијалност главна особина података на којима се заснивају претходно описани проблеми. Први проблем се, стога, заправо лако уопштава на проблем класификације било каквих секвенцијалних података, под условом да се сличност израчунава на основу измена које одговарају мутацијама које настају у геному, а то су супституције, инсерције и делеције. Други проблем је сличан претходном, с тим што класификује (заправо групише – кластерије) поднизове једне секвенце. Кађ се све узме у обзир, испоставља се да би жељено решење истовремено било корисно како за проблеме надгледаног, тако и ненадгледаног машинског учења над секвенцијалним подацима [27].

Овакво решење могло би се аналогно користити за додељивање новооткривених протеина некој постојећој фамилији [31] (класификација), моделовање и препознавање људског понашања, гестова, рукописа и говора [20] (класификација), обраду звука и сигнала [7] (класификација и кластеровање) или одређивање врсте речи у тексту [24]. Домен примене је чак и моделовање тока пандемије *COVID-19* засновано на најосновнијим подацима, чији се пример резултата у случају Републике Србије може видети на слици 2.2, док се детаљније информације о моделима могу добити увидом у цитирани рад [5].



Слика 2.2: Моделовање епидемије *COVID-19* у Србији [5]

ГЛАВА 2. Мотивација

Досад је више пута наговештено да су добар избор за решавање представљених проблема скривени Марковљеви модели. Ваља, међутим, напоменути да се многи наведени задаци још ефектније решавају својеврсним проширењима *HMM*-а, попут условних случајних поља [18], или комбинацијом са вештачким неуронским мрежама [37].

Глава 3

Моделовање

Након мотивације, у овој глави су дефинисани скривени Марковљеви модели, као предложено решење свих досад изложених проблема. Поред дефиниције, на примеру бацања новчића (непоштене коцкарнице) приказано је како се тачно проблеми моделују помоћу *HMM*, те како се на основу тог модела може одговорити на нека важна питања.

3.1 Дефиниција модела

Како би се лакше конструисао општи модел за решавање свих досадашњих проблема, а посебно бацања новчића, крупије се, уместо као особа, може схватити као примитивна машина – аутомат. Његова структура за почетак није важна, али деловање јесте. Аутомат је секвенцијалне природе, те оперише кроз низ корака. У сваком кораку се налази у неком приватном стању, које означава који новчић је заправо бачен (конкретно F и B), при чему јавно приказује исход бацања тог новчића (конкретно H и T). Стање је, дакле, непознато, па се другачије назива скривеним стањем. И стања и опажања погодно је апстрактовати симболима, нпр. баш карактерима, како је и учињено.

У сваком кораку, аутомат доноси две одлуке: у које скривено стање прећи (да ли га променити) и који симбол емитовати у том новом стању. Испоставља се да се обе одлуке могу донети у потпуности стохастички, што би значило да је добијен жељени статистички потковани модел проблема. Заиста, прва одлука може се донети тако што се случајно одабере F или B као почетно стање (нпр. са једнаким вероватноћама $1/2$), а надаље се у сваком кораку

ГЛАВА 3. Моделовање

стање мења са неком малом вероватноћом (нпр. $1/10$), док се са знатно већом преосталом вероватноћом (нпр. $9/10$) остаје у истом стању. Друга одлука доноси се на основу прве и већ познатих вероватносних особина новчића – нпр. вероватноћа емитовања H једнака је $1/2$ у стању F , а $3/4$ у стању B .

Претходно изложени аутомат заправо одговара дуго најављиваном појму скривених Марковљевих модела. HMM се традиционално представља као вероватносни модел који се састоји из следећих основних елемената:

- скривених стања x_i – свако стање из скупа x има индекс i ,
- опажања, опсервација, емисија, приказа, исхода, симбола y_i ,
- полазних вероватноћа π_i – колико је често x_i почетно стање,
- вероватноћа прелаза a_{ij} – колико се често из x_i прелази у x_j ,
- излазних вероватноћа b_{ij} – колико се често у стању x_i емитује y_j .

Пример који одговара оваквој дефиницији дат је на слици 1.2. Наравно, подразумева се да су познати број стања n и број могућих опсервација m као помоћни елементи сваког HMM . Тако је заправо $x = \{x_1, \dots, x_n\}$, $y = \{y_1, \dots, y_m\}$, $\pi = \{\pi_1, \dots, \pi_n\}$, $a = \{a_{ij}\}_{1 \leq i,j \leq n}$, $b = \{b_{ij}\}_{1 \leq i \leq n, 1 \leq j \leq m}$.

Када се говори о дискретним (мултиномијалним) HMM , расподеле вероватноћа су коначне, мада је иначе могуће моделовати разне непрекидне расподеле [36]. Додатно, HMM се у литератури често дефинише још компактније, као уређена тројка (a, b, π) , односно (A, B, π) ако се користе велика слова. Стварно, скупови x и y одговарају индексима, познатим из тројке.

Како би овакав модел био у потпуности статистички заснован и смислен, обично се захтева да се све појединачне вероватноће сабирају у јединицу:

$$\sum_{i=1}^n \pi_i = 1, (\forall i \in \{1, \dots, n\}) \sum_{j=1}^m a_{ij} = 1, (\forall i \in \{1, \dots, n\}) \sum_{j=1}^m b_{ij} = 1.$$

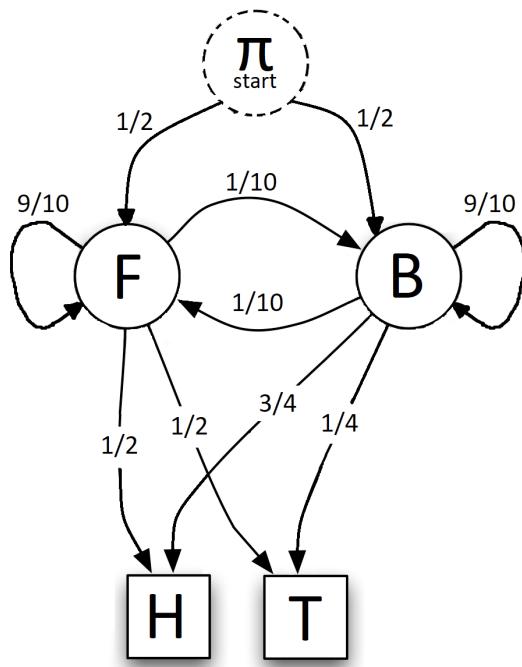
Постоје, међутим, изузети који су детаљније обрађени у наставку, када се говори о важним надградњама појма скривених Марковљевих модела.

На основу већ разматране слике 1.2, познато је да се HMM може илустровати HMM дијаграмом. Ради се о графу чији су чворови стања и опсервације, а гране вероватноће преласка и емисије. Стил је у суштини произвољан, мада се на слици примећује разлика у значењу графичких елемената. Стања су

ГЛАВА 3. Моделовање

приказана кружним, а емисије квадратним чворовима. Вероватноће преласка исписане су изнад грана, а излазне вероватноће на самим гранама. Прелази и емисије нулте вероватноће (нпр. прелаз са x_1 на x_3 или на самог себе) нису ни приказани. Други стилови могу приказати све гране, а емисије и вероватноће емисија означити испрекиданим линијама. Независно од стила, *HMM* једнозначно одређује структуру свога дијаграма, а важи и обрнуто.

Сада је могуће искористити *HMM* за прецизно моделовање проблема бацања коцкице у непоштеној коцкарници. За конкретни случај овог проблема, изложен на почетку поднаслову, дијаграм је приказан на слици 3.1.



Слика 3.1: Скривени Марковљев модел бацања новчића

Служи се истим стилом као претходно описани граф, с тим што додатно испрекидано приказује замишљено полазно стање, што је новина на слици. Уређена петорка изгледа овако и пружа исте информације:

- скривена стања $x = \{F, B\}$ – нпр. $x_1 = F$ и $x_2 = B$,
- опсервације $y = \{H, T\}$ – нпр. $y_1 = H$ и $y_2 = T$,
- полазне вероватноће $\pi = \left\{ \frac{1}{2}, \frac{1}{2} \right\}$ – нпр. $\pi_1 = P(x_1) = P(F) = \frac{1}{2}$,

- преласци $a = \begin{pmatrix} \frac{9}{10} & \frac{1}{10} \\ \frac{1}{10} & \frac{9}{10} \end{pmatrix}$ – нпр. $a_{12} = P(x_1 \mapsto x_2) = P(F \mapsto B) = \frac{1}{10}$,
- емисије $b = \begin{pmatrix} \frac{1}{2} & \frac{1}{2} \\ \frac{3}{4} & \frac{1}{4} \end{pmatrix}$ – нпр. $b_{21} = P(y_1|x_2) = P(H|B) = \frac{3}{4}$.

Историјски гледано, појам *HMM* увели су Ленард Баум и сарадници кроз низ статистичких радова објављених у другој половини шездесетих година двадесетог века [10]. *HMM* је надградња појма Марковљевих ланаца (енгл. *Markov Chain, MC*), који су у суштини *HMM* без емисија. Ради се, дакле, о уобичајеном стохастичком аутомату, који се састоји из стања и вероватноћа прелаза. *MC* је почетком века формулисао руски статистичар Андреј Марков, по коме су и названи, како би моделовао Марковљеве процесе – стохастичке промене стања такве да тренутно стање зависи искључиво од претходног [4]. Прва практична примена *HMM* била је препознавање говора, док је биолошка примена почела 1986, Бишоповим и Томпсоновим поравнањем ДНК [13].

3.2 Могућности модела

Могуће је дефинисати појам скривеног пута $p = p_1 \dots p_k$ као низ k стања кроз која *HMM* пролази, а да притом емитује секвенцу опсервација $o = o_1 \dots o_k$. Примера ради, може бити да је низ видљивих исхода $o = THTHHTHTTH$, а позадински низ скривених стања $p = FFFBBBBBFFF$. Главна идеја је анализирати у ком су односу p и o , те са којом се вероватноћом реализују.

Уз опис *HMM* за бацање новчића у непопшеној коцкарници, дати су примери значења чланова петорке параметара, који донекле наговештавају могућности скривених Марковљевих модела. Прво, напоменуто је да полазне вероватноће заправо представљају вероватноћу да је модел на почетку секвенце био у неком стању. Другим речима, то су заправо вероватноће $P(p)$ свих једночланих низова скривених стања. Друго, имплицирано је да матрица емисија складишти маргиналну расподелу емисија при познатом стању. То су условне вероватноће $P(o|p)$ исхода при једночланом низу скривених стања.

Могуће је, дакле, директно из дефиниције *HMM* израчунати вероватноће $P(p)$ и $P(o|p)$ за $k = 1$, и то као $P(x_i) = \pi_i$, односно $P(y_j|x_i) = b_{ij}$. Према

ГЛАВА 3. Моделовање

познатој једнакости условне вероватноће, важи $P(p, o) = P(p)P(o|p)$, па је и та вероватноћа тривијално позната за путеве јединичне дужине, као $P(x_i, y_j) = \pi_i b_{ij}$. Реч је о заједничкој вероватноћи да *HMM* пролази кроз низ стања p , а да притом емитује управо секвенцу опсервација o . Према уобичајеним принципима, могуће је приметити следеће: $\sum_p \sum_o P(p, o) = 1$. Наиме, када се саберу вероватноће свих могућих комбинација низа опажања и скривених путева одређене дужине k , добија се јединица, што значи да је покрiven цео простор догађаја у *HMM*. Из ове дводимензионалне (заједничке) расподеле путева и емисија могу се без проблема извести маргиналне (појединачне) расподеле путева $P(p) = \sum_o P(p, o)$ и симбола $P(o) = \sum_p P(p, o)$.

Подсећања ради, оригинални циљ код непопштене коцкарнице био је пронаћи највероватнији низ стања (бачених новчића) за познати низ опсервација (исхода), што је управо максимална вредност $P(p, o)$ по свим p за познато o . Претходно опште постављен задатак проналаска највероватнијег низа бацања на основу анализе исхода постаје сасвим конкретан статистички проблем – на основу емитоване ниске симбола o одредити највероватнију секвенцу скривених стања p . У наставку је показано како је то заправо могуће урадити.

За почетак, важно је формално дефинисати проблем. Пример наивне формулатије дат је проблемом 0. За њу и њој сличне је, међутим, већ закључено да у суштини нису смислене. Зато је, између остalog, уведен појам *HMM*.

Проблем 0: Непопштена коцкарница

На основу низа исхода бацања новчића, одредити када кручије у непопштеној коцкарници користићи који од два мотућа новчића.

Улаз: низ $o = o_1 \dots o_k$ исхода (H и T) бацања два новчића (F и B).

Излаз: низ $p = p_1 \dots p_k$ новчића такав да o_i резултат бацања p_i .

Добра формулација преко појма *HMM* дата је кроз проблем 1. Управо је она детаљно обрађена у наставку овог поглавља, као његов централни део.

Проблем 1: Декодирање приказа¹

Пронаћи оптимални пут кроз *HMM* ако је емитована ниска o .

Улаз: ниска $o = o_1 \dots o_k$ и $HMM(a, b, \pi)$ који ју је емитовао.

Излаз: скривени пут p који максимизује вероватноћу $P(p, o)$ над свим могућим путевима, дакле $\text{argmax}_p P(p, o)$ за улазно o .

¹Implement the Viterbi Algorithm, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10c/>.

ГЛАВА 3. Моделовање

Прва идеја јесте исцрпна претрага простора догађаја над маргиналном расподелом $P(p, o)$ за познато o . Стога се формулише нови проблем 2.

Проблем 2: Вероватноћа пута и исхода

Израчунати вероватноћу једног пута и овајашања у HMM.

Улаз: скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз $HMM(a, b, \pi)$ и ниска $o = o_1 \dots o_k$ која је тим проласком емитована.

Излаз: заједничка вероватноћа пута и исхода $P(p, o)$.

Како је $P(p, o) = P(p)P(o|p)$, тако је најпогодније независно израчунати $P(p)$ и $P(o|p)$ за сваки од n^k скривених путева. Број путева (такође и ниски симболи) дужине k у HMM са n могућих стања иначе је експоненцијалан зато што се одабир сваког своди на варијације – уређене изборе са понављањем.

Први потпроблем је израчунавање вероватноће пута, што се може формализовати проблемом 3. Он је у наставку решен у виду једне формуле.

Проблем 3: Вероватноћа скривеног пута²

Израчунати вероватноћу скривеног пута p кроз HMM .

Улаз: скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: вероватноћа улазног пута $P(p)$.

Први елемент $P(p)$, дакле, представља вероватноћу скривеног пута p , односно вероватноћу да HMM прође кроз низ стања p . Већ је показано да за једночлане путеве важи $P(x_i) = \pi_i$. Вишечлани путеви заправо почињу једночланим, а онда се проширују користећи стохастичке прелазе. Стога је $P(p_1 p_2 \dots p_{k-1} p_k) = P(p_1)P(p_1 \mapsto p_2) \dots P(p_{k-1} \mapsto p_k)$. По дефиницији је познато $P(x_i \mapsto x_j) = a_{ij}$, па се свеукупно вероватноћа пута израчунава као:

$$P(p) = P(p_1) \prod_{i=2}^k P(p_{i-1} \mapsto p_i) = \pi_{ind(p_1)} \prod_{i=2}^k a_{ind(p_{i-1}), ind(p_i)}.$$

Други потпроблем је израчунавање вероватноће исхода при познатом путу, што се може формализовати као 4. И то се решава само једном формулом.

Други елемент $P(o|p)$, дакле, представља вероватноћу да HMM емитује ниску o при проласку кроз низ стања p . Већ је наглашено да за једночлане путеве важи $P(y_j|x_i) = b_{ij}$. Код вишечланих нема разлике, пошто

²Compute the Probability of a Hidden Path, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10a/>.

Проблем 4: Вероватноћа исхода на путу³

Израчунати вероватноћу триказа о на јуту р кроз HMM.

Улаз: скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз $HMM(a, b, \pi)$ и ниска $o = o_1 \dots o_k$ која је тим проласком емитована.

Излаз: условна вероватноћа приказа на путу $P(o|p)$.

је пут фиксиран и само се прате опсервације. Стога је $P(o_1 \dots o_k | p_1 \dots p_k) = P(o_1 | p_1) \dots P(o_k | p_k)$. Свеукупно се вероватноћа пута може израчунати као:

$$P(o|p) = \prod_{i=1}^k P(o_i | p_i) = \prod_{i=1}^k b_{ind(p_i), ind(o_i)}.$$

3.3 Надградња дефиниције

Пре коначног решавања проблема декодирања, у дигресији која следи допуњена је дефиниција скривених Марковљевих модела, што доприноси једноставнијем раду са њима. Наиме, како би претходне формуле биле лакше за комбиновање и конкретну имплементацију, корисно је на следећи начин надградити HMM и сродне појмове попут скривеног пута и низа опсервација:

- уводи се експлицитно почетно стање $x_0 = \pi$ уместо одвојених полазних вероватноћа π , чиме свако π_i постаје део матрице прелаза a_{0i} ,
- почетно стање се увек подразумева, као нулти члан скривеног пута, па тако свако $p = p_1 \dots p_k$ постаје $p = p_0 p_1 \dots p_k$, и то тако да је $p_0 = x_0$,
- уводи се нулта емисија y_0 , што је заправо празан карактер, чиме се дозвољава да стања буду тиха и не емитују ништа, као почетно стање,
- матрице a_{ij} и b_{ij} постају мапе a_{x_i, x_j} и b_{x_i, y_j} , што знатно олакшава рад, а исто важи и за низ π_i , ако се чува (прослеђује), који постаје мапа π_{x_i} ; у вези са тим, из мапа се може прочитати скуп скривених стања и опсервација, чиме се HMM дефинитивно своди на тројку (a, b, π) .

³Compute the Probability of an Outcome Given a Hidden Path, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10b/>.

ГЛАВА 3. Моделовање

Оваква допуна свој пун потенцијал показује у напредним применама, мада је и њен почетни допринос незанемарљив. Формуле сада постају:

$$P(p) = \pi_{p_1} \prod_{i=2}^k a_{p_{i-1}, p_i} = \prod_{i=1}^k a_{p_{i-1}, p_i}, P(o|p) = \prod_{i=1}^k b_{p_i, o_i}.$$

Заједничка формула вероватноће проласка кроз пут p и приказа o јесте:

$$P(p, o) = P(p)P(o|p) = \prod_{i=1}^k a_{p_{i-1}, p_i} \prod_{i=1}^k b_{p_i, o_i} = \prod_{i=1}^k a_{p_{i-1}, p_i} \cdot b_{p_i, o_i}.$$

Интуитивно, заједнички догађај заправо представља низ независних догађаја прелаза и емисија, па је зато $P(p, o) = a_{p_0, p_1} b_{p_1, o_1} \dots a_{p_{k-1}, p_k} b_{p_k, o_k}$, дакле прелаз из почетног стања у p_1 , па емисија o_1 у p_1 , затим прелаз из p_1 у p_2 , и тако даље. Све ове формуле дају елегантан начин рачунања само уз помоћ a и b .

Ваља поменути још неке важне надградње HMM , које су у практичним применама често применљивије од основне верзије:

- опсервације y могу представљати бесконачан скуп; то дозвољава моделовање емисија изучених из непрекидних расподела (досад су разматране дискретне) и тада се мапа вероватноћа b_{ij} посматра као мапа расподела b_i , која складишти расподеле (густине расподела) емисија стања x_i ,
- само нека стања се означавају као завршна или се уводи експлицитно завршно стање $x_{n+1} = \omega$, што је посебно важно за проблем декодирања,
- umesto нестабилних правих вероватноћа користе се логаритмоване вероватноће, што ублажава рачунске грешке, мада усложњава алгоритме.

Пожељно је усвојити и последњу надградњу, након које формуле постају (подсетник на правило – логаритам производа је збир логаритама):

$$P_{\log}(p) = \log P(p) = \log \pi_{p_1} + \sum_{i=2}^k \log a_{p_{i-1}, p_i} = \sum_{i=1}^k \log a_{p_{i-1}, p_i},$$

$$P_{\log}(o|p) = \log P(o|p) = \sum_{i=1}^k \log b_{p_i, o_i},$$

$$P_{\log}(p, o) = \log P(p, o) = \sum_{i=1}^k (\log a_{p_{i-1}, p_i} + \log b_{p_i, o_i}).$$

ГЛАВА 3. Моделовање

Заправо је најефикасније директно радити са логаритмованим вероватноћама, односно све вероватноће одмах логаритмовати, укључујући улазне из мапа a и b . На тај начин, логаритам се, као рачунарски скупа функција, израчунава само једном, а не сваки пут изнова када је неопходно одредити жељену вероватноћу. Под овом претпоставком, формуле су лакше за запис и рачун:

$$P_{\log}(p) = \pi_{\log, p_1} + \sum_{i=2}^k a_{\log, p_{i-1}, p_i} = \sum_{i=1}^k a_{\log, p_{i-1}, p_i},$$

$$P_{\log}(o|p) = \sum_{i=1}^k b_{\log, p_i, o_i}, P_{\log}(p, o) = \sum_{i=1}^k (a_{\log, p_{i-1}, p_i} + b_{\log, p_i, o_i}).$$

Надграђени HMM сада се може свести на једноставну уређену двојку:

- мапа логаритмованих вероватоћа прелаза a_{\log, x_i, x_j} ,
- мапа логаритмованих излазних вероватноћа b_{\log, x_i, y_j} .

За конструкцију оваквог објекта треба имати оригинално a и b , као и π , па се зато ипак, интуиције ради, HMM и даље званично сматра уређеном тројком (a, b, π) , а не интерно коришћеном трансформисаном двојком (a_{\log}, b_{\log}) . Погодно је запамтити и следеће вредности као помоћне елементе модела:

- скуп скривених стања x и њихов број n ,
- скуп могућих емисија y и њихов број m ,
- мапу логаритмованих полазних вероватноћа π_{\log} ,
- оригиналне вредности у мапама a, π .

Надграђени HMM моделује непопштену коцкарницу на следећи начин:

$$\pi \begin{pmatrix} F & B \\ \log \frac{1}{2} & \log \frac{1}{2} \\ \log \frac{9}{10} & \log \frac{1}{10} \\ \log \frac{1}{10} & \log \frac{9}{10} \end{pmatrix}$$

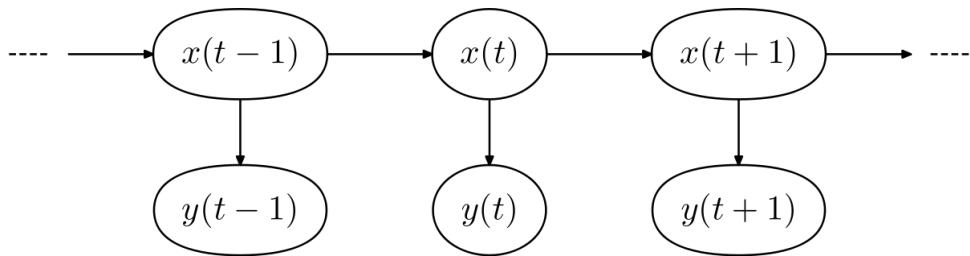
• прелази $a_{\log} = F \begin{pmatrix} F & B \\ \log \frac{1}{2} & \log \frac{1}{2} \\ \log \frac{9}{10} & \log \frac{1}{10} \\ \log \frac{1}{10} & \log \frac{9}{10} \end{pmatrix}$ – напр. $a_{\log, F, B} = P_{\log}(F \mapsto B)$,

$$\bullet \text{ емисије } b_{\log} = \frac{F}{B} \begin{pmatrix} H & T \\ \log \frac{1}{2} & \log \frac{1}{2} \\ \log \frac{3}{4} & \log \frac{1}{4} \end{pmatrix} - \text{ нпр. } b_{\log, B, H} = P_{\log}(H|B) = \log \frac{3}{4}.$$

3.4 Витербијев алгоритам

Одређивањем формуле $P(p, o)$ за путеве произвольне дужине, могуће је приступити проблему максимизације. Како је већ предложено, наивна идеја иссрпне претраге састоји се од генерирања сваког од n^k скривених путева p , израчунавања $P(p, o)$ за познати низ приказа o , и на крају одабира пута који представља $\operatorname{argmax}_p P(p, o) = \operatorname{argmax}_p P(p|o)$. Овиме се добро моделује условна расподела скривених путева при познатим опажањима. Логаритам је монотона трансформација, тако да се задатак максимизације не мења ни када се посматрају стабилније вредности $P_{\log}(p, o)$. Из изведене формуле је очигледно да је за свако израчунавање заједничке вероватноће потребно $O(k)$ корака, па је укупна временска сложеност наивног приступа $O(n^k k)$, што је релативно прихватљиво за кратке скривене путеве и мали број стања.

Путеви су, међутим, често врло дугачки, а *HMM* имају велики број скривених стања, те наивни приступ није прихватљив у општем случају. Стога је инжењер електротехнике Ендрю Витерби 1967. предложио ефикасније решење [38], засновано на посебном Витербијевом графу. Он се може схватити као врста Менхетн графа, код ког је задатак оптимизација тежине пута од полазног до циљног (завршног) чвора, као нпр. у проблему одређивања расположења уређивања (едит растојања). Осмишљен је на основу основног временског својства сваког Марковљевог модела, представљеног на слици 3.2.



Слика 3.2: Ток времена код скривених Марковљевих модела⁴

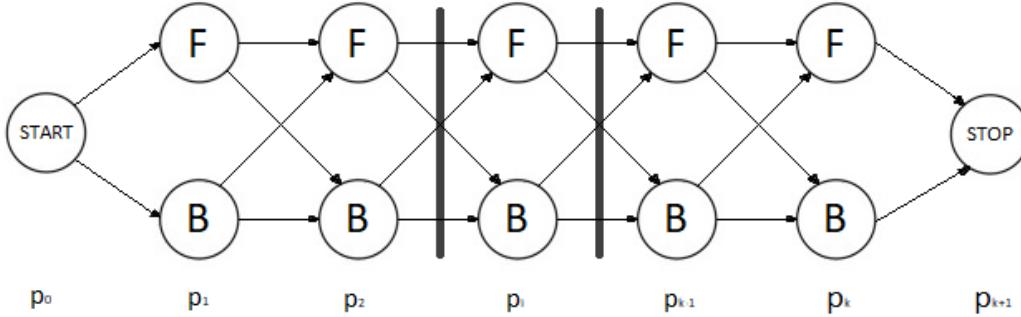
⁴Qef. File:Hmm_temporal_bayesian_net.svg. Wikimedia Commons, илустрација са Викимедије: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hmm_temporal_bayesian_net.svg.

ГЛАВА 3. Моделовање

Сваки *HMM*, наиме, моделује један Марковљев процес, што је поменуто при дефиницији. Последица је да тренутно стање зависи искључиво од претходног на путу и ниједног другог – мапа a моделује $p_{t-1} \mapsto p_t$, у ознакама са слике $x(t-1) \mapsto x(t)$. Исто тако, опсервација зависи искључиво од текућег стања – мапа b моделује $p_t \mapsto o_t$, у ознакама са слике $x(t) \mapsto y(t)$. Стога се *HMM* понекад дефинише и нешто другачије, као уређени пар (X, Y) , где је X систем који се моделује, а Y процес чије понашање директно зависи од X .

Прецизније, X је Марковљев процес са неопсервабилним („скривеним“) стањима (x из дефиниције), а циљ модела је да се нешто о том процесу сазна на основу опажања (y из дефиниције) процеса Y , чије је понашање видљиво. Притом, условна расподела Y (на слици конкретна вредност $y(t)$, а у низу опсервација приказ o_t) у неком временском тренутку t (индекс низа) зависи искључиво од стања X у том истом тренутку (на слици конкретна вредност $x(t)$, а на скривеном путу стање p_t). Приметно је да је ова дефиниција у суштини једнака претходно изложеним, с тим што је математички напреднија – углавном је теже разумети торку апстрактних статистичких процеса него једноставних структура попут скупова, низова, матрица и мапа. На конкретном примеру непоштене коцкарнице, X је процес одабира (замене) новчића, а Y процес бацања новчића, односно добијања исхода тог бацања.

Свеукупно, описано временско својство оправдава употребу Витербијевог графа, чији је пример за проблем непоштене коцкарнице дат на слици 3.3. Граф се састоји из мреже (матрице) чворова чија основа има n редова и k колона. Свака колона састоји се од низа чворова који представљају сва скривена стања у тренутку t . Из сваког чвора у колони $t - 1$ усмерена је по једна грана у сваки чвор из колоне t , на основу чињенице да се из сваког стања у тренутку $t - 1$ може прећи у било које стање у тренутку t . Поред ове основе, мрежа има и два посебна чвора – извор (експлицитно почетно стање) и понор (експлицитно завршно стање). Замисао овакве мреже је да истовремено моделује све скривене путеве дужине k кроз *HMM* са n скривених стања.



Слика 3.3: Витербијев граф непоштене коцкарнице

Стварно, различитих путева од извора до понора има тачно n^k , и сваки одговара једном скривеном путу у *HMM*. Остаје још питање како отежати гране Витербијевог графа, након чега се он може искористити за проблем максимизације кумулативне тежине у понору. То је заправо основни проблем над сваким Менхетн графом, који се може решити алгортмима динамичког програмирања, који обилазе чворове графа по тополошком редоследу.

За стицање интуиције у вези са моћи Витербијевог графа, корисно је увести проблем 5. Задатак је пронаћи највероватнији скривени пут дужине k .

Проблем 5: Највероватнији скривени пут

*Израчунаши највероватнији скривени јаваш р кроз *HMM*.*

Улаз: дужина k скривеног пута кроз $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: највероватнији скривени пут $p_{opt} = p_1 \dots p_k$.

Наивно решење проблема своди се на већ разматрану исцрпну претрагу простора скривених путева, којих је n^k . Вероватноћа сваког пута рачуна се у $O(k)$ корака, па је временска сложеност експоненцијална $O(n^k k)$. Ипак, могуће је искористити Витербијев граф како би се постигло знатно побољшање.

Нека је мрежа чврова представљена мапом s , таквом да $s_{x_i, t}$ складишти неки податак о чвиру (стању) x_i у тренутку t . Оваква структура погодна је за свођење полазног проблема на проблем динамичког програмирања. Како је крајњи циљ максимизација вероватноће пута, нека $s_{x_i, t}$ заправо складишти вероватноћу оптималног пута дужине t који се завршава у стању x_i . Очигледно, за путеве јединичне дужине, односно у тренутку $t = 1$, важи:

$$s_{x_i, 1} = P(x_i) = \pi_{x_i} = a_{\pi, x_i}.$$

ГЛАВА 3. Моделовање

Испоставља се да се и остале тежине могу узети из мапе прелаза, што важи због темпоралног својства Марковљевих процеса. Како свако стање зависи искључиво од првог претходног, тако се и вероватноћа нејединичног пута максимизује тако што се размотре сва могућа претходна стања, односно за једно стање краћи путеви. Тако важи следећа рекурентна формула:

$$s_{x_i,t} = \max_j \{s_{x_j,t-1} \cdot a_{x_j,x_i}\},$$

$$P(p_{opt}) = \max_p P(p) = \max_j \{s_{x_j,k}\}.$$

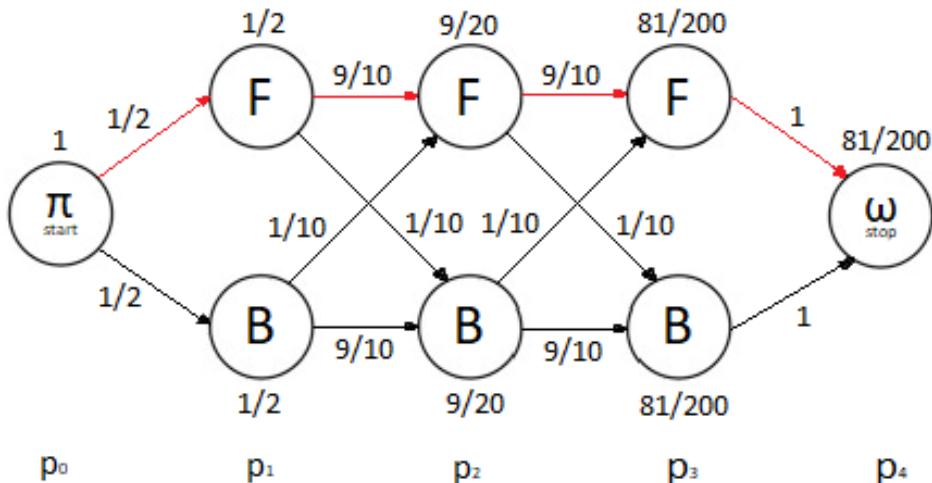
Наравно, проблеми са рачуном се решавају логаритамском трансформацијом:

$$s_{\log,x_i,1} = P_{\log}(x_i) = \pi_{\log,x_i} = a_{\log,\pi,x_i},$$

$$s_{\log,x_i,t} = \max_j \{s_{\log,x_j,t-1} + a_{\log,x_j,x_i}\},$$

$$P_{\log}(p_{opt}) = \max_p P_{\log}(p) = \max_j \{s_{\log,x_j,k}\}.$$

Ова верзија је боља и због тога што су Менхетн алгоритми адитивни по природи, односно засновани су на сабирању, а не множењу вредности. Слика 3.4 приказује како Витербијев граф моделује три бацања у непоптеном казину.



Слика 3.4: Максимизација $P(p)$ са три бацања

Општи облик ове рекурентне релације заправо је заснован на тежинама грана τ , где мапа облика $\tau_{x_i,x_j,t}$ означава тежину гране из чвора x_i ка x_j у тренутку t , укључујући експлицитни почетни извор π и завршни понор ω .

ГЛАВА 3. Моделовање

Оне су у конкретном случају биле логаритми вероватноћа преласка или саме вероватноће, као на слици, у ком случају се множи уместо сабира:

$$s_{x_i,1} = \tau_{\pi,x_i}, s_{x_i,t} = \max_j \{s_{x_j,t-1} + \tau_{x_j,x_i,t}\},$$

$$P_{opt} = \max_j \{s_{x_j,k} + \tau_{x_j,\omega}\}.$$

Како је моделовано $P(p)$, тако се може моделовати и $P(p, o)$ за фиксирано o . У првом случају, важило је $\tau_{x_i,x_j,t} = \tau_{x_i,x_j} = a_{x_i,x_j}$, док је у другом нешто сложеније $\tau_{x_i,x_j,t} = a_{x_i,x_j} \cdot b_{x_j,o_t}$, дакле вероватноћа догађаја да HMM пређе из стања x_i у стање x_j , након чега емитује симбол o_t . Формуле су сада:

$$s_{x_i,1} = \pi_{x_i} \cdot b_{x_i,o_1} = a_{\pi,x_i} \cdot b_{x_i,o_1},$$

$$s_{x_i,t} = \max_j \{s_{x_j,t-1} \cdot a_{x_j,x_i} \cdot b_{x_i,o_t}\},$$

$$P(o_{opt}, p) = \max_p P(p, o) = \max_j \{s_{x_j,k}\}.$$

Логаритамске верзије се изводе аналогно.

Када се говори о проблему максимизације, могуће је моделовати и $P(o|p)$, с тим што за то није неопходан Витербијев граф. Поставка 6 је у наставку.

Проблем 6: Највероватније опсервације на путу

Израчунати највероватнији низ емисија на јутру р кроз HMM.

Улаз: скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз $HMM(a, b, \pi)$.

Иzlaz: највероватнија опажања $o_{opt} = o_1 \dots o_k$ на путу p .

Формула максималне вероватноће је једноставна, по свакој опсервацији:

$$P(o_{opt}|p) = \prod_{i=1}^k \max_j b_{p_i,y_j}.$$

Претходно изложени систем рада са HMM , заснован на Витербијевом графу и динамичком програмирању назива се Витербијев алгоритам, посебно када се примењује на декодирање – проблем 1. Изведеним рекурентним формулама још само треба додати систем путоказа, како би поред вероватноће оптималног пута могао бити добијен (реконструисан) и сам пут.

Важна предност Витербијевог алгоритма је његова сложеност. Основна мрежа графа има nk чворова и $n^2(k - 1)$ грана (из свих n стања ка свим n стањима у $k - 1$ временском прелазу), чему се додају још два додатна чвора

и $2n$ грана повезаних са тим чврсвима. Израчунавање иде по чврсвима, користећи гране, тако да је укупна временска и просторна сложеност $O(n^2k)$ уколико би се користио експлицитни граф. Ово је временски знатно боље од наивних $O(n^k k)$, али је просторно захтевније, јер наивни приступ захтева само $O(k)$ помоћног простора. Ради се о уобичајеном компромису између времена и простора, када алгоритам за бржи рад захтева виште меморије.

У многим случајевима је, међутим, графовољно само замислити, а у радиу користити искључиво мапу s и путоказе, а не и тежине τ , што за собом повлачи нешто бољу просторну сложеност $O(nk)$. Ово важи код декодирања, јер су тежине (гране) већ похрањене у мапама a и b . Други начин побољшања је ако се τ представи као функција уместо мапа, што је такође могуће код проблема декодирања, јер тежине не зависе од временског тренутка. Додатно, уколико јеовољно добити само максималну вероватноћу, а не и сам пут, не треба чувати путоказе, а мапу s могуће је свести на два низа који се наизменично попуњавају, чиме се просторна сложеност своди на $O(n)$.

У практичним применама је могуће постићи још бољу сложеност. Наиме, многи *HMM* имају забрањене прелазе између неких стања. Таква ситуација веома је честа, а приказана је још на уводној слици 1.2. Могуће је без проблема уклонити гране Витербијевог графа које одговарају таквим прелазима, што знатно смањује време извршавања алгоритма. Посебно занимљиви могу бити недозвољени прелази који укључују извор и понор. На тај начин се може онемогућити да неко стање буде полазно или завршно, што често има биолошки смисао, о чему ће бити речи на примеру профилних модела протеина.

3.5 Алгоритам „напред”

Сваки *HMM*, подсећања ради, може се схватити као уређени пар два процеса – скривеног Марковљевог, који се очитава скривеним путем p , и опсервабилног зависног, који се очитава низом емисија o . Цела идеја *HMM* јесте детаљно статистички потковано моделовање тих процеса и њиховог односа.

Досад је било речи о појединачној расподели $P(p)$, условној $P(o|p)$ и заједничкој $P(p, o)$. Како је код последњег подразумевано да је позната ниска o , тиме је заправо моделована и условна расподела $P(p|o)$. Могуће је моделовати и појединачну расподелу $P(o)$, која је једина преостала како би модел био комплетиран. Основни задатак из овог домена дат је кроз проблем 7.

Потребно је израчунати вероватноћу да *HMM* емитује неку ниску дужине k .

Проблем 7: Вероватноћа опсервација⁵

*Израчунати вероватноћу приказа o у *HMM*.*

Улаз: низ опажања $o = o_1 \dots o_k$ у $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: вероватноћа улазног низа опажања $P(o)$.

Још једном, наивни приступ састоји се од генерирања свих n^k путева и сумирања вероватноћа на њима, према раније изложеној маргинализацији $P(o) = \sum_p P(p, o)$. Занимљиво је, међутим, приметити да је ова маргинализација врло слична садржају мапе s код Витербијевог алгоритма, која у понору израчунава $P(p_{opt}, o) = \max_p P(p, o)$. Једина разлика је у примењеном оператору – да ли је сума или максимум. Ово није случајно, јер је идеја обе формуле обилазак свих скривених путева кроз *HMM* истовремено.

Свеукупно, сасвим је оправдано увести нову мапу f (од енгл. *forward* – напред), надахнуту претходном s (од енгл. *score* – скор), такву да елемент $f_{x_i, t}$ складишти вероватноћу префикса опажања дужине t (подниз $o_1 \dots o_t$), насталог на скривеном путу који завршава стањем x_i . Одатле су формуле:

$$f_{x_i, 1} = \pi_{x_i} \cdot b_{x_i, o_1} = a_{\pi, x_i} \cdot b_{x_i, o_1},$$

$$f_{x_i, t} = \sum_j f_{x_j, t-1} \cdot a_{x_j, x_i} \cdot b_{x_i, o_t},$$

$$P(o) = \sum_j f_{x_j, k}.$$

Као и досад, логаритамске верзије производе мењају збировима. Овога пута има и један додатак: сума се мења посебним оператором – $\text{logsumexp}_j f(j)$. Он моделује сабирање у логаритамском домену, тј. апроксимира $\log \sum_j e^{f(j)}$, како би се избегле рачунске грешке настале због поткорачења или прекорачења.

У наставку, ваља поменути и сродан проблем одређивања највероватнијег исхода, односно $o_{opt} = \text{argmax}_o P(o)$. Формулација је дата проблемом 8.

И овде је наивно решење сувише неефикасно. Штавише, лошије је сложености од досадашњих $O(n^k k)$, јер је сада потребно генерисати и сваки могући низ опсервација. Сложеност исцрпне претраге стога је $O(n^k m^k k)$. Нешто боља сложеност добија се ако се не генеришу сви путеви, јер се свако од укупно m^k

⁵Compute the Probability of a String Emitted by an HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10d/>.

Проблем 8: Највероватније опсервације

Израчунаши највероватнији низ емисија у HMM.

Улаз: дужина k пута кроз $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: највероватнија опажања $o_{opt} = o_1 \dots o_k$.

опажања може оценити већ изложеним алгоритмом „напред“. Тада је свеукупна сложеност $O(n^2 m^k k)$. Напредно решење може се конструисати помоћу тродимензионе верзије Витербијевог графа [17], где нову димензију чине све могуће опсервације по моделу. Сада је идеја применом оба оператора заредом успешно максимизовати суму $\max_o \sum_p P(p, o) = P(o_{opt})$.

Алтернативни поглед на ствари подразумева остајање у дводимензионом простору – замисао је да из сваког од n стања (такође и почетног π) ка свим n стањима у $k - 1$ временском прелазу иде по m грана, по једна за сваку могућу опсервацију. Тиме гране Витербијевог (мулти)графа вишне не моделују само прелазе из једног стања у друго, већ успут и емисије. Тежине се одабирају тако да осликају вероватноћу промене стања, а затим емитовања симбола представљеног граном. Сваки пут од извора до понора сада није само скривени пут p , већ пут p (чворови) са прируженим опажањима o (гране). Максимални збир добија се максимизирањем суме између нивоа. Сложеност је у том случају $O(n^2 mk)$, а формуле:

$$f_{x_i,1} = \max_k \{\pi_{x_i} \cdot b_{x_i, y_k}\} = \max_k \{a_{\pi, x_i} \cdot b_{x_i, y_k}\},$$

$$f_{x_i,t} = \max_k \sum_j f_{x_j, t-1} \cdot a_{x_j, x_i} \cdot b_{x_i, y_k},$$

$$P(o_{opt}) = \max_o P(o) = \sum_j f_{x_j, k}.$$

Логаритамске верзије су аналогне.

Заменом суме максимумом у претходним формулама, добија се највероватнији пар скривеног пута дужине k и на њему емитоване ниске симбола. То је решење проблема 9, сличног досад разматранима.

Проблем 9: Највероватнији скривени пут и опсервације

Израчунаши највероватнији шут и оштавкања у HMM.

Улаз: дужина k пута кроз $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: највероватнија комбинација пута p и опажања o .

ГЛАВА 3. Моделовање

То је $\max P(p, o)$, што је исплативије од $n^k m^k$ или $n^2 m^k$ наивних покушаја:

$$\begin{aligned} f_{x_i,1} &= \max_k \{\pi_{x_i} \cdot b_{x_i, y_k}\} = \max_k \{a_{\pi, x_i} \cdot b_{x_i, y_k}\}, \\ f_{x_i,t} &= \max_{j,k} \{f_{x_j, t-1} \cdot a_{x_j, x_i} \cdot b_{x_i, y_k}\}, \\ \max P(p, o) &= \max_j \{f_{x_j, k}\}. \end{aligned}$$

И овде се логаритамске верзије изводе аналогно, па се не наводе.

Комплетности ради, могу се формално представити и проблеми 10 и 11, којима се експлицитно израчунава $P(p|o)$ и $\max_p P(p|o)$ за познато o .

Проблем 10: Вероватноћа пута при исходу

Израчунати вероватноћу јућа р кроз HMM ако је отажено о.

Улаз: ниска $o = o_1 \dots o_k$ коју је емитовао $HMM(a, b, \pi)$ и скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз који је прошао.

Излаз: условна вероватноћа пута при приказу $P(p|o)$.

Сама вероватноћа пута ако је опажена нека секвенца емисија може се израчунати преко формуле условне вероватноће. Решење је, дакле:

$$P(p|o) = \frac{P(p, o)}{P(o)}.$$

Главнина оваквог приступа је израчунавање вероватноће исхода, тако да је сложеност $O(n^2 k)$. Наивни приступ би, као и досад, узео $O(n^k k)$ времена.

Проблем 11: Највероватнији пут при исходу

Израчунати највероватнији јућа р кроз HMM ако је отажено о.

Улаз: ниска $o = o_1 \dots o_k$ коју је емитовао $HMM(a, b, \pi)$.

Излаз: највероватнији пут $p_{opt} = p_1 \dots p_k$ ако је опажено o .

Максимизација је још једноставнија, када се примети раније поменуто $\operatorname{argmax}_p P(p, o) = \operatorname{argmax}_p P(p|o)$ за познато o . Ово значи да је довољно искористити решење проблема 1, уз прикладно скалирање вероватноће.

Сада је познато како Витербијевим графом моделовати и максимизовати сваку од критичних вероватноћа $P(p)$, $P(o)$, $P(p, o)$, $P(p|o)$ и $P(o|p)$, чиме је модел комплетиран, барем по питању његове описне стране (остаје учење). Досадашња постигнућа модела сумирања су табелом 3.1, која следи.

Табела 3.1: Могућности скривених Марковљевих модела

Број	Проблем – алгоритам			Сложеност	
	Улаз	Циљ	Вредност	Наивни	Напредни
1	o_k	$(\arg)\max_p$	$P(p, o)$	$O(n^k k)$	$O(n^2 k)$
2	p_k, o_k	–	$P(p, o)$	$O(k)$	–
3	p_k	–	$P(p)$	$O(k)$	–
4	p_k, o_k	–	$P(o p)$	$O(k)$	–
5	k	$(\arg)\max_p$	$P(p)$	$O(n^k k)$	$O(n^2 k)$
6	p_k	$(\arg)\max_o$	$P(o p)$	$O(m^k k)$	$O(mk)$
7	o_k	–	$P(o)$	$O(n^k k)$	$O(n^2 k)$
8	k	$(\arg)\max_o$	$P(o)$	$O(n^k m^k k)$ $O(n^2 m^k k)$	$O(n^2 mk)$
9	k	$(\arg)\max_{p,o}$	$P(p, o)$	$O(n^k m^k k)$ $O(n^2 m^k k)$	$O(n^2 mk)$
10	p_k, o_k	–	$P(p o)$	$O(n^k k)$	$O(n^2 k)$
11	o_k	$(\arg)\max_p$	$P(p o)$	$O(n^{2k} k)$ $O(n^k k)$	$O(n^2 k)$

Глава 4

Биолошки значај

Након дефинисања скривених Марковљевих модела, описа њихове примене и алгоритама који дају одговоре на важна питања у вези са моделованим проблемом, у овој глави је непосредно описан биолошки значај *HMM*, односно њихова примена у досад изложеним биоинформатичким проблемима. Конкретно, глава која следи бави се потрагом за генима, односно откривањем *CG* острва помоћу *HMM*, као и употребом профилних *HMM* за решавање проблема попут откривања фенотипа ХИВ-а.

4.1 Гени – два стања

У уводном делу, посвећеном мотивацији, дискутовано је о проналажењу места на којима се гени налазе, односно где њихово преписивање (транскрипција) започиње. Објашњено је зашто је удео динуклеотида *CG* мали у некодирајућим регионима ДНК, а нешто већи у кодирајућим, те како има смисла ту чињеницу искористити за откривање такозваних *CG* острва (*CpG* места), што су региони богати генима. Имплементиран је и наиван приступ решавању овог проблема, заснован на клизећем прозору, али су уз њега остале неразјашњене важне недоумице: како одредити добру величину прозора, као и шта тачно радити када преклапајући прозори нуде различиту класификацију подниза.

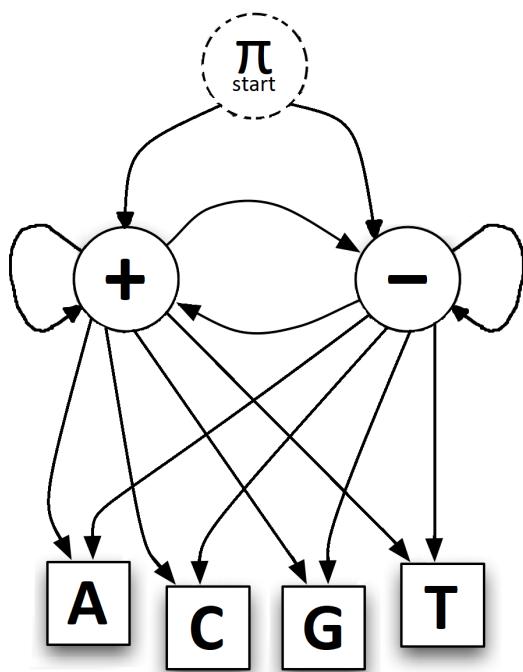
Сада је циљ доћи до прецизног, једнозначног и статистички поткованог решења употребом одговарајућег скривеног Марковљевог модела. Замисао је у суштини једноставна – улазни низ нуклеотида посматра се као секвенца опажања коју треба декодирати. Другим речима, за сваки карактер ниске са улаза потребно је одредити да ли је вероватније настало као емисија *CG* острва

ГЛАВА 4. Биолошки значај

или не, што је заправо позадински скривени процес. Стога важи следеће:

- скривена стања $x = \{+, -\}$ – јесте CG острво или није,
- опсервације $y = \{A, C, G, T\}$ – азбука ДНК нуклеотида.

Скупови скривених стања и могућих опажања се, дакле, лако одређују, па чак и веома личе на разматрани проблем непоштене коцкарнице. Наиме, такође су присутна два стања, мада опсервација има нешто више. Свеукупно, проблем се може апстражовати неком врстом коцкарнице, у којој крупије мења две различито отежане четворостране коцкице. Уопштени дијаграм (без вероватноћа) оваквог модела приказан је на слици 4.1.



Слика 4.1: Скривени модел CG острва са два стања

Остаје још одредити све битне вероватноће. За овај део задатка погодује применити прави биоинформатички приступ. Подсећања ради, биоинформатика је у уводу дефинисана као интердисциплинарна област која се бави применом рачунарских технологија у области биологије и сродних наука, са нагласком на разумевању биолошких података. Наведено је да статистички (математички) апарат служи за рад са подацима, рачунарске технологије тај апарат чине употребљивијим, док биологија даје потребно доменско знање

ГЛАВА 4. Биолошки значај

(разумевање) за рад са биолошким и сродним подацима. Управо је то овде и примењено – статистика (математика) дефинише појам *HMM*, а рачунарске технологије (конкретно *Python* и *Jupyter*) ефикасно га имплементирају.

Потребно је још консултовати се са биологијом, а овде заправо и генетиком, како би се адекватно одредили параметри модела. За почетак, треба приметити да се може добити фактички било какав исечак ДНК секвенце. Другим речима, не постоји гаранција да ће почетни регион бити кодирајући или не, тако да је најсигурније равномерно расподелити почетна стања:

- полазне вероватноће $\pi = \begin{pmatrix} 0,5 \\ 0,5 \end{pmatrix}$ – равномеран почетак.

Даље, питање је колико често долази до промене стања. Одговор је да се то дешава веома ретко, с тим што мањи део секвенце представља *CG* острво, тако да је нешто већа шанса да дође до напуштања *CG* острва, него уласка у њега. Свеукупно, могла би се одабрати мапа прелаза попут следеће:

- прелази $a = \begin{pmatrix} + & - \\ 0,98 & 0,02 \\ - & 0,01 \end{pmatrix}$ – мала могућност промене.

За крај, остаје најтеже питање: како моделовати вероватноће опажања. Постоје разни приступи, а један од њих заснован је на емпиријским подацима. Примера ради, уколико се трага за генима у људском *X* хромозому, могу се апроксимирати вероватноће нуклеотида на основу вероватноћа динуклеотида из таблице 2.1. Резултат тога је следећа мапа вероватноћа опсервација:

- | | | | |
|----------|----------|----------|----------|
| <i>A</i> | <i>C</i> | <i>G</i> | <i>T</i> |
|----------|----------|----------|----------|
- емисије $b = \begin{pmatrix} + & - \\ 0,222 & 0,2555 & 0,299 & 0,2235 \\ - & 0,274 & 0,227 & 0,2295 & 0,2695 \end{pmatrix}$ – емпиријски.

Очекивано, нешто је већи удео цитозина и гуанина у кодирајућим регионима. Важи и супротно – нешто је већи удео аденина и тимина у некодирајућим регионима *X* хромозома, што је такође очекивана повезана појава.

Овакав модел, међутим, није успешан јер су вероватноће тако постављене да није могуће препознати малу *CG* острво. Приликом декодирања, закључак ће за сваку малу секвенцу бити да је највероватније цела (не)кодирајућа, из једноставног разлога што је свака промена стања веома скупа, а удео

ГЛАВА 4. Биолошки значај

нуклеотида није толико различит. Стога се може добити побољшање уколико се вероватноће прелаза мало приближе, а емисија мало више удаље.

То се може учинити тако што се, за почетак, вероватноће промене стања поставе на нешто већу једну десетину. Ако је *HMM* у некодирајућем стању, може се претпоставити да је расподела нуклеотида равномерна – сваки се емитује са могућностју једне четвртине. У супротном, сматра се да се цитозин и гуанин приказују четири пута чешће. Резултујуће вероватноће сада су:

$$\bullet \text{ прелази } a = \begin{pmatrix} + & - \\ 0,9 & 0,1 \\ - & 0,1 & 0,9 \end{pmatrix} \text{ – већа могућност промене,}$$

$$\bullet \text{ емисије } b = \begin{pmatrix} A & C & G & T \\ 0,1 & 0,4 & 0,4 & 0,1 \\ - & 0,25 & 0,25 & 0,25 \end{pmatrix} \text{ – поправљено.}$$

Нажалост, ни овај модел није бољи. Параметри су, иначе, преузети са примера употребе библиотеке *pomegranate*¹, која је детаљније описана у практичном делу електронске лекције. Поред ње, у додатку лекције представљен је још један познати модул језика *Python* за рад са скривеним Марковљевим моделима – *hmmlearn*². Оба су употребљена за потрагу за генима.

Трећа идеја за добијање бољег резултата могла би бити додатно повећавање вероватноће промене стања. Мала повећања не би променила резултат, док би већа изврнула смисао *CpG* места – острвом би се прогласио сваки цитозин и гуанин. Ова чињеница није необична и у складу је са тим да оваква употреба *HMM* спада под домен ненадгледаног учења, где модел по самосталној процени групише поднизове улазне секвенце. То значи да се лако могу добити неочекивани или нездовољавајући резултати, попут једноставне поделе према текућем карактеру.

Следећа идеја настоји да проблем превазиђе тако што укључује већи број опажања. Наиме, могуће је ДНК секвенцу схватити као низ динуклеотида уместо самих нуклеотида, као код прозорског приступа. Сада важи следеће:

- опсервације $y = \{A, C, G, T\} \times \{A, C, G, T\}$ – азбука динуклеотида.

¹Jacob Schreiber. pomegranate, 05 2021. документација: <https://pomegranate.readthedocs.io/en/latest/>, репозиторијум: <https://github.com/jmschrei/pomegranate>.

²Anthony Lee and Sergei Lebedev. hmmlearn, 02 2021. документација: <https://hmmlearn.readthedocs.io/en/latest/>, репозиторијум: <https://github.com/hmmlearn/hmmlearn>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

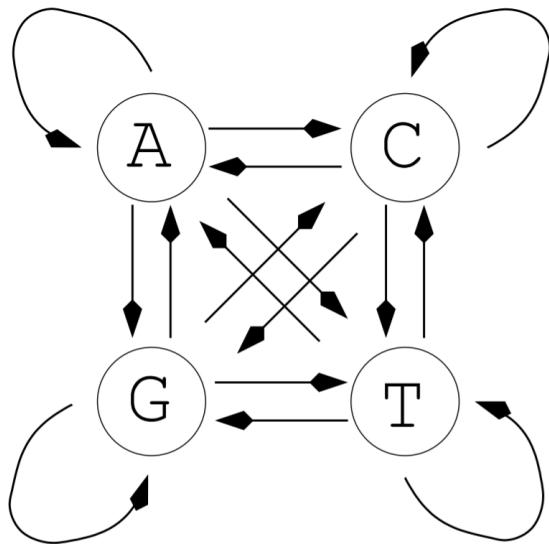
Може се изменити и мапа прелаза, док се мапа емисија узима према табели 2.1, која управо непосредно приказује вероватноће динуклеотида. Овај приступ даје засад најбоље резултате, који се могу видети у коду лекције.

Важна досад занемарена чињеница јесте да су *HMM* генеративни модели. Не само што служе за опис појава које моделују, већ могу и да их опонашају. Досад је размотрено како се могу добити скривени путеви или опажања који максимизују неку вероватноћу. Испоставља се да се још једноставније добијају произвољан скривени пут и исход на њему. Пут жељене дужине генерише се на основу мапе преласка, а исход на путу помоћу мапе емисија. Претходни модел за откривање гена тако се може искористити за генерисање вештачке ДНК секвенце, која задовољава статистички опис ДНК. Она, наиме, у појединачним деловима садржи *CG* острва и тиме се чини природнијом од случајно генерисане ниске над азбуком нуклеотида, што је додатна корист од *HMM*.

4.2 Гени – више стања

Како је већ напоменуто, сви досадашњи модели су по структури подсећали на непопштени казино – имали су два стања која се ретко мењају и углавном четири опсервације, мада је најбољи резултат добијен при последњем покушају, са чак шеснаест различитих динуклеотидних емисија. Алтернативна идеја увођењу већег броја исхода јесте увођење већег броја стања, што се најчешће реализује кроз два приступа, који су представљени у наставку.

Полазна идеја првог приступа [19] јесте да се *CG* острва и региони ван њих могу моделовати као два одвојена Марковљева ланца (подсећања ради, они су *HMM* без емисија, а скраћено се називају *MC*). Стања ланаца су јавна (то јест, нису скривена), пошто верно прате ДНК секвенцу коју моделују, и одговарају азбуци нуклеотида, па се могу представити сликом 4.2.



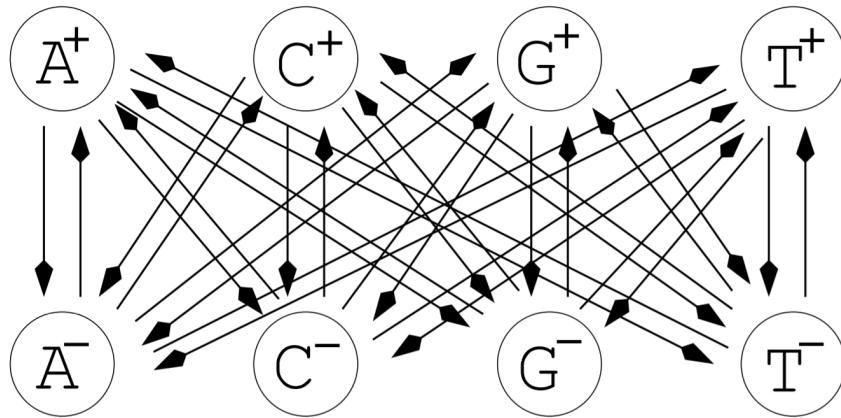
Слика 4.2: Марковљев ланац за моделовање ДНК секвенце [22]

Одговарајуће матрице прелаза могу се одредити емпиријским путем, дакле обрадом секвенци за које је познато јесу ли *CG* острва или не. Уобичајено се узимају вредности из табеле 4.1, које су унапред израчунате.

Табела 4.1: Вероватноћа прелаза између нуклеотида једне секвенце – лево у регионима *CG* острва, а десно ван њих [34]

	A	C	G	T	A	C	G	T
A	0,180	0,274	0,426	0,120	0,300	0,205	0,285	0,210
C	0,171	0,367	0,274	0,188	0,322	0,298	0,078	0,302
G	0,161	0,339	0,375	0,125	0,248	0,246	0,298	0,208
T	0,079	0,355	0,384	0,182	0,177	0,239	0,292	0,292

Аналогно прозорском приступу заснованом на динуклеотидном садржају секвенце и табели 2.1, могуће је помоћу *MC* за сваки подниз одредити да ли је већа вероватноћа да јесте *CG* острво или да није. Бројчана сагласност се за оба *MC* може израчунати већ имплементираним алгоритмом за одређивање вероватноће пута кроз *HMM*, као решење проблема 3. Одабир припадности пада на ланац са већом вероватноћом. Резултати су једнаки као у првом покушају, а остају нерешени проблеми прозорског приступа: како одредити добру величину прозора и како разрешити сукобе настале преклапањем прозора.



Слика 4.3: Спојени ланци за моделовање CG острва [22]

Као решење, предлаже се спајање ова два ланца у један. Резултујући MC дат је на слици 4.3. Он сада има осам стања, за сваки пар нуклеотида и припадности CG острву. Једноставности ради, пошто укупно има $8^2 = 64$ прелаза, приказани су само нови, док се стари (слика 4.2) подразумевају.

Пре свега, неопходно је одредити нову, заједничку матрицу преласка. За то се треба подсетити већ поменутог доменског биолошког знања, према коме је мало вероватан прелазак из кодирајућег у некодирајуће стање (нпр. само 2%), а још мање вероватно обрнуто (нпр. тек 1%). Нове вероватноће могу се добити скалирањем старих, нпр. на начин представљен табелом 4.2.

Табела 4.2: Вероватноћа прелаза унутар CG острва

	A^+	C^+	G^+	T^+
A^+	0,180p	0,274p	0,426p	0,120p
C^+	0,171p	0,367p	0,274p	0,188p
G^+	0,161p	0,339p	0,375p	0,125p
T^+	0,079p	0,355p	0,384p	0,182p
	A^-	C^-	G^-	T^-
A^+	0,180(1-p)	0,274(1-p)	0,426(1-p)	0,120(1-p)
C^+	0,171(1-p)	0,367(1-p)	0,274(1-p)	0,188(1-p)
G^+	0,161(1-p)	0,339(1-p)	0,375(1-p)	0,125(1-p)
T^+	0,079(1-p)	0,355(1-p)	0,384(1-p)	0,182(1-p)

Идеја је, дакле, расподелити вероватноће претходних прелаза унутар CG острва типа $P(N \mapsto M)$ на две нове типа $P(N^+ \mapsto M^+) = pP(N \mapsto M)$ и $P(N^+ \mapsto M^-) = (1 - p)P(N \mapsto M)$, где p представља вероватноћу останка унутар острва, нпр. $p = 98\%$. Аналогно томе, вероватноће претходних прелаза ван CG острва типа $P(N \mapsto M)$ могу се расподелити на две нове типа

ГЛАВА 4. Биолошки значај

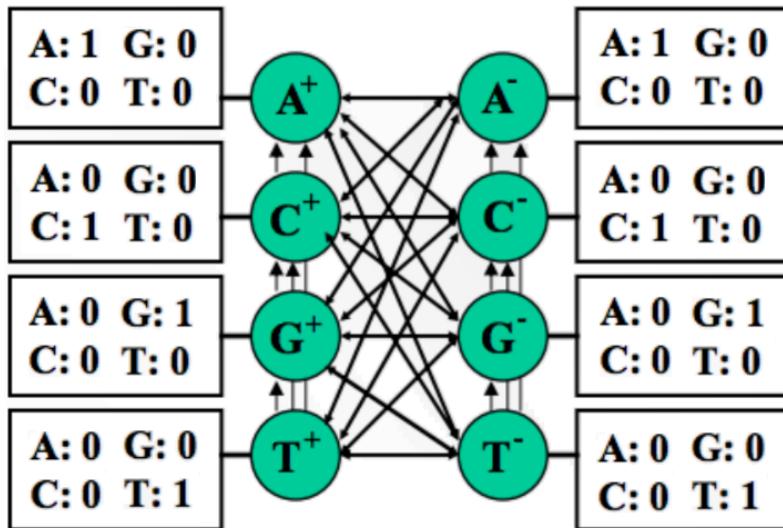
$P(N^- \mapsto M^-) = qP(N \mapsto M)$ и $P(N^- \mapsto M^+) = (1 - q)P(N \mapsto M)$, где q представља вероватноћу останка ван острва, нпр. $q = 99\%$. Алтернативна је равномерно расподелити вероватноће промене стања, као у табели 4.3.

Табела 4.3: Вероватноћа прелаза ван CG острва

	A^-	C^-	G^-	T^-
A^-	0,300q	0,205q	0,285q	0,210q
C^-	0,322q	0,298q	0,078q	0,302q
G^-	0,248q	0,246q	0,298q	0,208q
T^-	0,177q	0,239q	0,292q	0,292q
	A^+	C^+	G^+	T^+
A^-	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4
C^-	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4
G^-	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4
T^-	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4	(1-q)/4

Сада се спојени Марковљев ланац може и мора надградити у скривени Марковљев модел. Наиме, два одвојена MC била су смислена без унапређења, јер су имала само четири суштински јавна стања, која одговарају нуклеотидима из опажене секвенце. Нових осам стања је, међутим, по природи скривено, јер опажањем секвенце није познато у ком је модел стању, као у непоштеној коцкарници и другим моделима. Примера ради, већ за једночлани исход G није јасно да ли је настало у стању G^+ или G^- . Ниска дужине k може настати на 2^k различитих непознатих путева, који су стога скривени.

Већ је имплицирано да симбол N може приказати само стање типа N^+ и N^- . Важи и обрнуто, јер новоуведено стање N^σ управо и означава појаву симбола N у старом стању σ . Ово се може схватити и као својеврсни обрацац пројектовања (узорак, шаблон) у раду са MC и HMM . Последица је да је мапа емисија врло једноставна (такорећи дегенерирана) – свако стање са јединичном вероватноћом емитује одговарајући симбол. Слика 4.4 приказује коначан дијаграм овог модела, са изостављеним многобројним вероватноћама прелаза и наглашеним вероватноћама емисија.



Слика 4.4: Нова структура модела CG острва [26]

По питању почетних вероватноћа, могу се узети емпиријске, засноване на узорку, или пак равномерне могућности $1/8$. Кад се све узме у обзир:

- опсервације $y = \{A, C, G, T\}$ – азбука ДНК нуклеотида,
- скривена стања $x = y \times \{+, -\}$ – Декартов производ симбола,
- полазне вероватноће $\pi = \frac{1}{8}$ или емпиријске, према узорку,
- прелази a = припремљене вредности према табели 4.2 или 4.3,
- емисије $b = 1$ ако стање одговара, иначе 0, према слици 4.4.

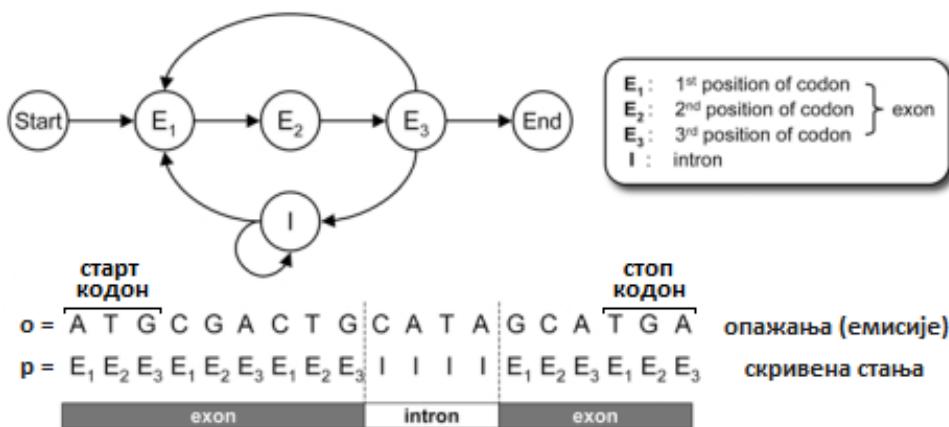
И овакав модел даје врло добре резултате. Други приступ потрази за генима, који такође укључује већи број стања, заправо и није заснован на проналажењу CG острва. Алтернативна идеја моделује сложенију структуру еукариотске ДНК, с циљем да још детаљније и прецизније анотира улазне секвенце.

Иако CG острва јесу добар показатељ да се у близини налази неки промотор, од кога би могло да почне преписивање (транскрипција) гена, још би боље било када би се могло тачно одредити који се нуклеотиди преписују, а који не. Познато је да се генски региони могу поделити на више поднизова који имају двојајку природу – или су интрони или егзони [28, 41]. Интрони су интрагенски региони, па тако представљају некодирајуће делове наследног

ГЛАВА 4. Биолошки значај

материјала, који су уметнути између гена и који се уклањају у процесу сплајсовања. Егзони (ексони, због експресије), с друге стране, кодирају протеине, и увек су дужине дељиве са бројем три.

Они се заправо састоје из триплета нуклеотида (кодона) који појединачно кодирају аминокиселине, које касније граде протеине. Постоји и неколико специјалних кодона – почетни *ATG* и завршни *TAA*, *TAG*, *TGA* – који означавају места на којима преписивање почиње и завршава се, мада стартни кодон на другим местима кодира метионин. Стога се ДНК може моделовати и аутоматом са слике 4.5. На слици су представљени пример, стања и прелази, са већим бројем забрањених прелаза.



Слика 4.5: Структура модела еукариотске ДНК³

Ово је, међутим, врло упрощен модел, а у стварности је организација ДНК знатно комплекснија – посебну структуру имају подланци на почетку и крају ДНК ланца, посебан удео нуклеотида имају делови на прелазу између егзона и интрона, а посебно се издвајају и такозвани *ORF*-ови, који су целом дужином кодирајући, без инtronских прекида [21]. Стога је очекивано да успешан модел ипак мора имати већи број стања, што и јесте случај.

Један од успешних модела за прецизно предвиђање гена који кодирају протеине јесте *GENSCAN*⁴, алат који су 1997. године осмислили Берц и Карлин [14]. Модел је карактеристичан по томе што предвиђа гене на оба ланца ДНК истовремено, па тако за већину елемената секвенце има дуплирана стања.

³Byung-Jun Yoon. File:HMM_Eukaryotic.jpg. Wikimedia Commons, илустрација са Викимедије: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HMM_Eukaryotic.jpg.

⁴The GENSCAN Web Server at MIT. информације и алат бесплатно доступни на интернет адреси: <http://argonaute.mit.edu/GENSCAN.html>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

Примера ради, делове егзона не моделује кроз три стања, као на слици 4.5, већ кроз шест. Укупно има 27 стања. Надограђен је појмом трајања (ново темпорално својство), по чему је такође карактеристичан, тако да није реч о сасвим обичном *HMM*-у. Принцип рада је, међутим, исти: улаз је ДНК секвенца, а излаз декодирана стања, израчуната Витербијевим алгоритмом. Алат је прилично успешан, са стопом погодака од преко 90% по нуклеотиду и око 80% по егзону, о чему се детаљније може прочитати у цитираном раду.

За крај, корисно је сумирати успех *HMM* у потрази за генима. Када се говори о моделима са само два стања (јесте или није *CG* острво), проблематично је уколико се постави мала вероватноћа промене стања. Такав модел мале секвенце по правилу проглашава за целе (не)кодирајуће. С друге стране, повећањем вероватноће прелаза долази до извртања идеје, и тада само текући карактер постаје битан. Знатно побољшање добија се посматрањем динуклеотидног састава ниске, уместо скенирањем једног по једног карактера. Једнако добро се понаша модел са више стања, иако су му емисије дегенерисане.

Од свих разматраних модела је, међутим, најбоља надградња *HMM* реализована кроз сложени алат *GENSCAN*. Она можда не проналази *CG* острва као таква, али зато прецизно лоцира кодирајуће егзоне. Општи закључак могао би бити да се боље показују модели са више стања, који конкретније препознају зависности. Штавише, овај проблем спада у оне поменуте у уводу, који се ефикасније могу решити помоћу многобројних надградњи *HMM*. Такође, могу се применити сродна условна случајна поља, која умањују број погрешних предвиђања [18].

4.3 Профилни модели

Крунско и можда најпознатије постигнуће скривених Марковљевих модела управо је њихова употреба у статистички поткованој класификацији секвенцијалних података. Конкретно, у наставку је размотрена примена у класификацији протеина, мада је објашњено и како се резултат уопштава.

Протеини су, наиме, организовани у разнолике протеинске фамилије, а чест биолошки задатак јесте додељивање новооткривеног полипептида некој од познатих фамилија. Замисао је да се на неки начин оцени припадност новог аминокиселинског ланца неким познатим фамилијама, а затим протеин додели оној са највећим скором. Наивни приступ оцењивању подразумева

ГЛАВА 4. Биолошки значај

поређење улазног полипептида са сваким чланом фамилије појединачно, те напослетку сабирање тако добијених скорова или пак узимање максималног.

Протеини се у биоинформатици представљају својом примарном структуром, као ниска аминокиселина (азбука од двадесетак слова), па се међусобно могу лако поредити неким алгоритмом за рад са нискама. Често се, међутим, дешава да између поједињих чланова фамилије постоје веће разлике, као нпр. код изузетно варијабилног гликопротеина *gp120* код ХИВ-а, како је размотрено у уводу. То резултује веома малим скоровима, па стога поређење по паровима у општем случају не даје добре резултате.

Последица је да се протеин који се класификује мора поредити са целом фамилијом одједном. За те потребе, фамилије се најчешће представљају као вишеструка поравнања и изведене профилне матрице.

Подсећања ради, вишеструко поравнање је матрица карактера (низ ниски), чији редови представљају ниске које се поравнивају, а колоне карактере тих ниски на позицији одређеној том колоном. Како су при поравнању дозвољене инсерције (убацивање) и делеције (брисање слова), у нискама се налази и специјални карактер „–”, који означава празнину. Није необично да постоје ретке колоне, у којима је велики удео празнина. Биолошки гледано, та аминокиселина вероватно није битна карактеристика фамилије која се моделује, па се занемарује. Прецизније, уклањају се све колоне у којима је удео празнина већи од унапред одређене границе θ . Резултат је пречишћено поравнање.

Напослетку се пречишћено поравнање трансформише у профилну матрицу, чији редови представљају (све) карактере из азбуке поравнатих ниски, док колоне складиште удео сваког карактера на тој позицији, не рачунајући празнине. Приметно је да профил, како говори о вероватносној расподели по колони (позицији) карактера из азбуке y величине m , веома личи на мапу емисија неког *HMM*-а. Испоставља се да се стварно може тако посматрати.

Најједноставнији *HMM* за моделовање фамилија протеина могао би бити у суштини дегенерисан ланац скривених стања x , такав да свако стање представља једну позицију, којих је укупно n . Од сваког стања x_i постоји само један прелаз са јединичном вероватноћом на стање x_{i+1} , док се вероватноће емисија узимају из профила. Прво стање x_1 обавезно је почетно, док је последње x_n обавезно завршно. На слици 4.6 приказан је претходно изнети ток догађаја од вишеструког поравнања до ланчаног *HMM*-а. Полазно има десет позиција, које се границом одсецања $\theta = 0,35$ своде на коначних осам.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

	1	2	3	4	5	6	7	8
ВИШЕСТРУКО ПОРАВНАЊЕ	A	C	D	E	F	A C	A	D F
	A	F	D	A	-	--	C	C F
	A	-	-	E	F	D - F	D	C
	A	C	A	E	F	-- A	-	C
	A	D	D	E	F	A A	A	D F
ПРЕЧИШЋЕНО ПОРАВНАЊЕ	A	C	D	E	F	A	D	F
	A	F	D	A	-	C	C	F
	A	-	-	E	F	F	D	C
	A	C	A	E	F	A	-	C
	A	D	D	E	F	A	D	F
ПРОФИЛ	A	1	0	1/4	1/5	0	3/5	0
	C	0	2/4	0	0	0	1/5	1/4
	D	0	1/4	3/4	0	0	0	3/4
	E	0	0	0	4/5	0	0	0
	F	0	1/4	0	0	1	1/5	0
ЛАНЦАЦ			$M_1 \rightarrow M_2 \rightarrow M_3 \rightarrow M_4 \rightarrow M_5 \rightarrow M_6 \rightarrow M_7 \rightarrow M_8$					

Слика 4.6: Мотивациони пример *HMM* профиле [17]

Ваља напоменути да се стања ланчаног *HMM*-а најчешће означавају као M_i , како је и на слици, а не као x_i , како је уобичајено код *HMM*. Разлог томе је што она заправо представљају поклапања (енгл. *match*) на тој позицији. Напоменуто је већ и да је овакав модел дегенерисан. Како има обавезно почетно и завршно стање, као и обавезне прелазе, кроз њега постоји само један скривени пут – тачно $M_1 M_2 \dots M_{n-1} M_n$.

Остаје још питање употребне вредности оваквог модела, односно оваквих модела, јер би постојао по један *HMM* за сваку фамилију. Сада би се скор могао добити као вероватноћа емитовања ниске (новог полипептида) o у осмишљеном моделу. И овога пута, протеин би био додељен оној фамилији са највећим $P(o)$. Одређивање те вероватноће већ је разматрано као решење проблема 7. Ипак, како је модел дегенерисан, нема потребе примењивати сложени алгоритам „напред”, па чак ни рачунати једнаку вероватноћу при обавезному путу $P(o|M_1 \dots M_n)$, као решење проблема 4. Довољно је само помножити одговарајуће вредности из профилне матрице, под претпоставком

ГЛАВА 4. Биолошки значај

међусобне независности аминокиселина у секвенци. Примера ради, вероватноћа да *HMM* са слике 4.6 емитује *ADDAAFFDF* износи (слика 4.7):

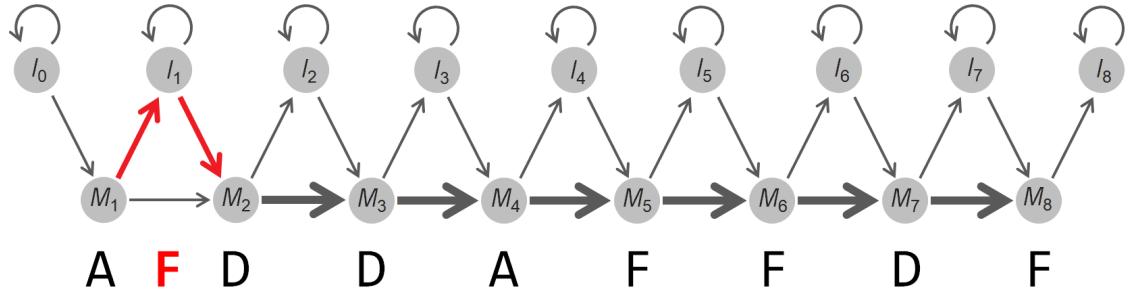
$$P(\text{ADDAAFFDF}) = 1 \cdot \frac{1}{4} \cdot \frac{3}{4} \cdot \frac{1}{5} \cdot 1 \cdot \frac{1}{5} \cdot \frac{3}{4} \cdot \frac{3}{5} = 0,003375.$$

	A	1	0	1/4	1/5	0	3/5	0	0
C	0	2/4	0	0	0	1/5	1/4	2/5	
D	0	1/4	3/4	0	0	0	3/4	0	
E	0	0	0	4/5	0	0	0	0	
F	0	1/4	0	0	1	1/5	0	3/5	
ОПАЖАЊЕ		A	D	D	A	F	F	D	F

Слика 4.7: Вероватноћа опсервације као скор фамилије [17]

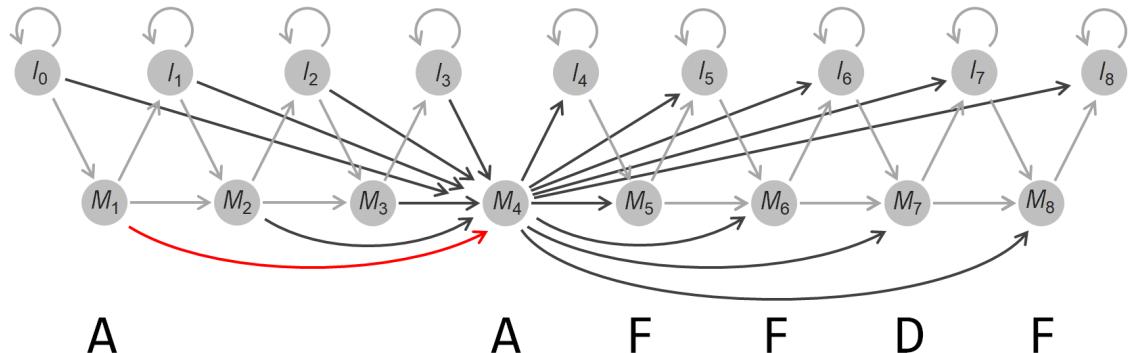
Свеукупно, овакав модел није лош утолико што добро осликова сличност протеина са фамилијом – што је улазни полипептид сличнији фамилији, то је његов скор (вероватноћа) већи. Такође, различито оцењује сваку појединачну колону, што је циљ постављен у уводу. Ипак, он због дегенерисаности и није прави *HMM*. Штавише, није ништа бољи од саме профилне матрице. Иако је употребљив за опсервације (полипептиде) дужине $k = n$, главно ограничење је што се лоше моделују исходи других дужина. Њихова вероватноћа је подразумевано нулта, тј. сматрају се немогућим. Овај наивни модел, ипак, није толико бескористан, јер се може употребити као основа за прављење напредног, свеобухватног *HMM*-а за класификацију разних врста секвенцијалних података, а не само протеина, о чему ће бити речи у наставку.

Прво, могуће је суочити се са проблемом опажања дужине $k > n$. Једноставно решење јесте додавање нових стања, која би дозволила додатне приказе. Прецизније, најбоље је додати $n + 1$ стање инсерције I_i , за индекс $i \in \{0, \dots, n\}$. Замисао је да посета стању I_i дозволи емитовање додатних симбола између колона i и $i + 1$ поравнања. Стога се додају гране од M_i ка I_i , као и од I_i ка M_{i+1} . Наравно, како би било могуће емитовати више додатних симбола, додаје се и петља – грана од I_i ка самом себи. Специјално, стање I_0 моделује инсерције пре првог карактера поравнања, док I_n дозвољава уметања након последњег слова. Слика 4.8 приказује употребу нових стања у одређивању пута кроз допуњени ланац са слике 4.6 за досад необјашњиво опажање *AFFDAAFFDF*. Ово је, дакле, опажање *ADDAAFFDF* са слике 4.7, али уз уметнутно *F* на другом месту. Оптимални пут је подебљан.



Слика 4.8: Увођење стања инсерције [17]

Даље, могуће је ухватити се укоштац и са проблемом опажања дужине $k < n$. Сада је задатак моделовати делеције, односно омогућити прескакање неких колона поравнања. Наиван приступ овом решењу било би баш прескакање неких поклапања додавањем великог броја грана. Наиме, могла би се додати по грана ка сваком M_i од сваког M_j и I_j за $j < n$, као и по једна од сваког M_i ка сваком M_j и I_j за $j > n$. Другим речима, тада би се у неко стање поклапања могло непосредно доћи из било ког стања лево, као и непосредно отићи у било које стање десно. Како би то изгледало на допуњеном моделу са слике 4.8, може се видети на слици 4.9, која следи. Црвеном бојом наглашена је грана која омогућује рад са досад необјашњивим опажањем $AAFFDF$, дакле са уклоњена два карактера DD . Како би слика остала читљива, додате су само нове гране чији је један крај поклапање M_4 .



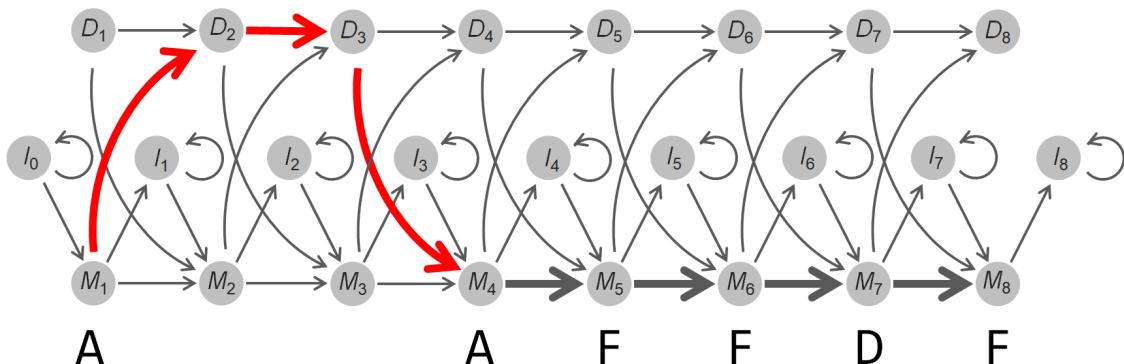
Слика 4.9: Наивна обрада делеција [17]

Овакав приступ, међутим, није пожељан, управо због великог броја додатих грана. Подсећања ради, сви важни алгоритми за рад са *HMM* засновани су на Витербијевом графу. Када се говорило о томе, напоменуто је да је сложеност Витербијевог и повезаних алгоритама директно сразмерна броју

ГЛАВА 4. Биолошки значај

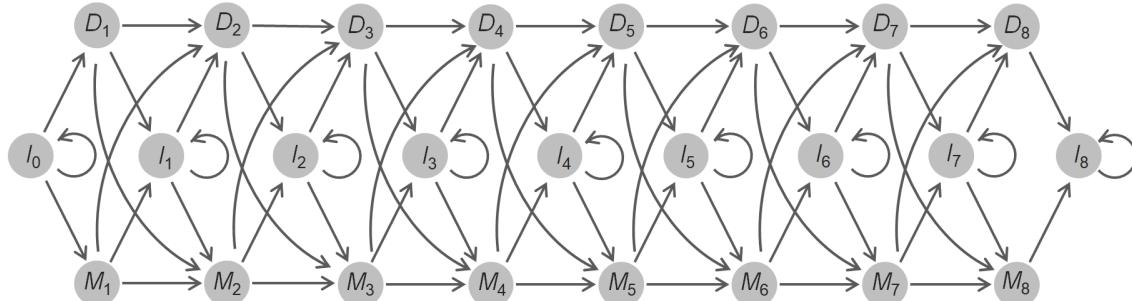
грана у графу, који, с друге стране, зависи од броја дозвољених прелаза у самом моделу. Претходном дорадом, број прелаза је са линеарног скочио на квадратни – реда $O(n^2)$, где n , као и досад, означава број колона у поравнању.

Како би рад са моделом био ефикасан, неопходно је задржати линеаран број грана. То се чини додавањем нових, тихих стања, која не приказују ништа (понекад се зампља да емитују празнину „–”), а представљају алтернативан пут у односу на главни, који иде преко стања поклапања. Прецизније, додаје се n стања делеције D_i , таквих да се од сваког D_i може доћи до M_{i+1} и D_{i+1} , као и од сваког M_i до D_{i+1} . Сада је колону поравнања i , односно стање M_i , могуће прескочити проласком кроз стање D_i . Слика 4.10 приказује употребу нових стања у одређивању пута кроз допуњени модел са слике 4.8 за већ разматрано опажање AAFFDF. Оптимални пут је такође подебљан.



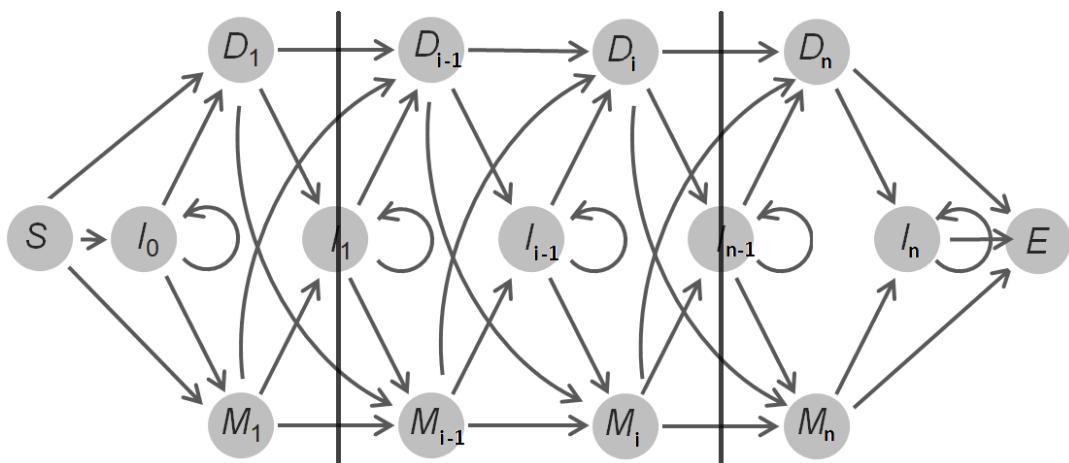
Слика 4.10: Увођење стања делеције [17]

Тренутно су могући прелази између стања поклапања и инсерције, као и између стања поклапања и делеције. Како би модел био комплетан, недостају још прелази између инсерција и делеција. Конкретно, треба омогућити прелаз из сваког D_i на I_i , као и од сваког I_i ка D_{i+1} . Сада је могуће произвољно мењати тип стања: од инсерције $I_i \mapsto I_i$, $I_i \mapsto D_{i+1}$, $I_i \mapsto M_{i+1}$, од делеције $D_i \mapsto I_i$, $D_i \mapsto D_{i+1}$, $D_i \mapsto M_{i+1}$, од поклапања $M_i \mapsto I_i$, $M_i \mapsto D_{i+1}$, $M_i \mapsto M_{i+1}$. Коначна структура модела са осам колона пречишћеног вишеструког поравнања, који одговара мотивационом примеру, дата је на слици 4.11.



Слика 4.11: Коначна структура модела [17]

Већ је примећено да се код профилних модела са n не означава број скривених стања, већ број колона пречишћеног вишеструког поравнања. Стања је трипут више. Још једна њихова специфичност је да је уобичајен рад са експлицитним почетним стањем S (од енгл. *start*) и завршним E (од енгл. *end*), тако да се и она додају. Од полазног стања могуће је ући у I_0 , D_1 или M_1 , док се у терминално долази из I_n , D_n или M_n . Свеукупно, општи профилни HMM са n колона могао би се приказати дијаграмом са слике 4.12.



Слика 4.12: Општи профилни *HMM*

Ово је, дакле, такозвани профилни *HMM* или *HMM* профил. Историјски гледано, употребу оваквих модела описали су 2002. Бејтман и сарадници, на основу чега је осмишљена позната база података Пфам [9]. Она се данас састоји од скоро 20.000 вишеструких поравнања различитих протеинских домена (издвојени делови протеина, попут *V3* петље из увода) и рутински се користи у анализи нових протеинских секвенци⁵. Како се граде на основу поравнања

⁵Pfam 34.0 (March 2021, 19179 entries). званичнијијијајт: <http://pfam.xfam.org/>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

P и границе одсецања θ , профили се означавају као $HMM(P, \theta)$. Њихово одређивање формално се представља кроз проблем 12.

Проблем 12: Одређивање профилног модела⁶

Најправиши профилни HMM на основу вишеструког поравнања.

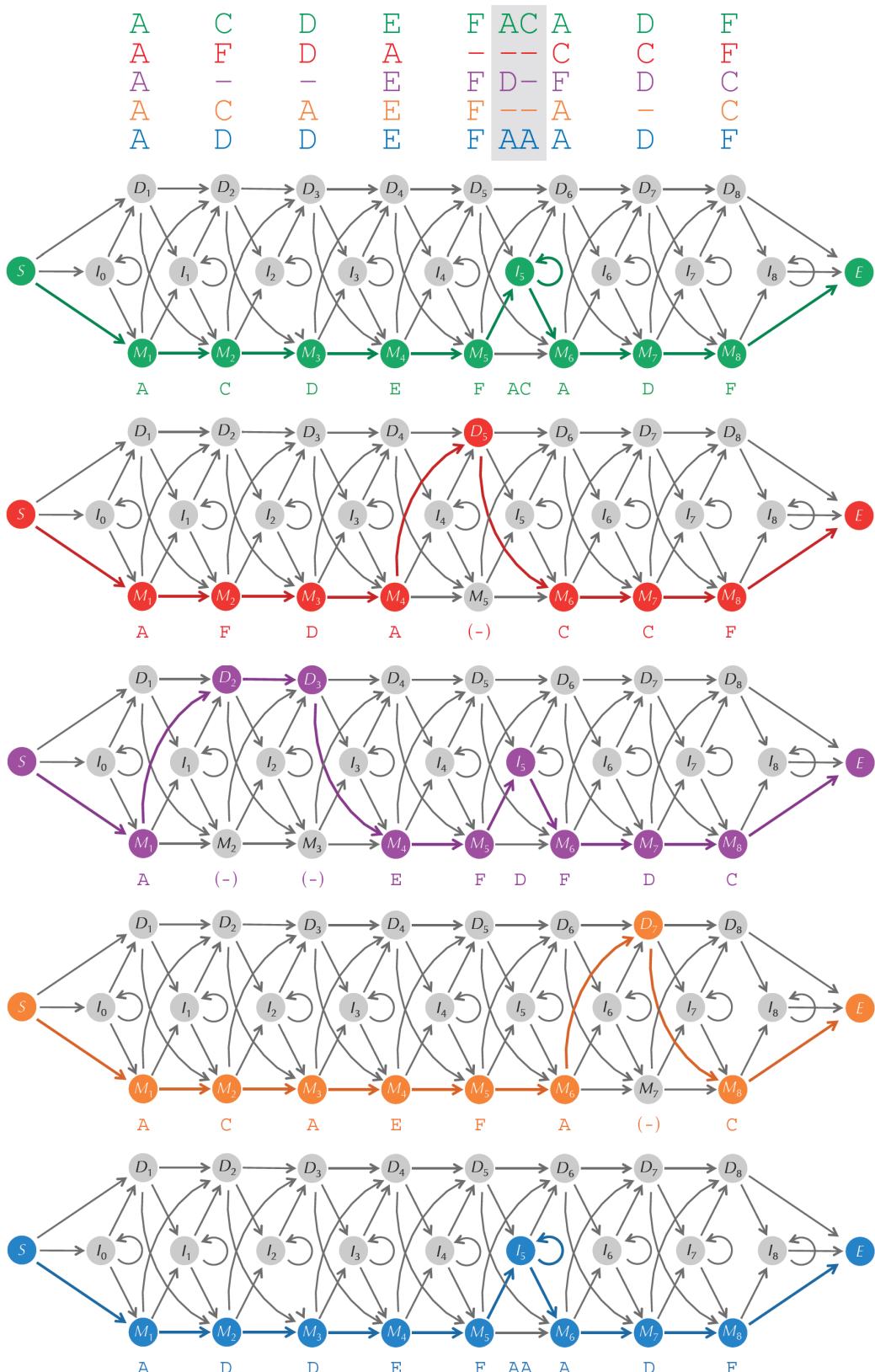
Улаз: вишеструко поравнање P и граница одсецања θ .

Излаз: профилни модел $HMM(P, \theta)$.

Подсећања ради, сваки HMM је петорка, а засад је одређен само први члан – скривена стања x , којих је укупно $3n + 3$. Одређен је и скуп дозвољених прелаза, па тако из сваког стања излазе највише по три гране, што значи да је укупан број прелаза линеаран – реда $O(n)$, како је и захтевано. Могуће опсервације, као други члан петорке, познате су из улазног поравнања, а зависе од примене. У случају рада са протеинима, скуп y гради двадесетак аминокиселина. Из профилне матрице су познате и емисије у стањима поклапања, а познати су и обавезно почетно (трети члан петорке π) и завршно стање.

Недостају, међутим, све вероватноће прелаза a , као и расподела опажања b у непоклапајућим стањима. Њихово одређивање илустровано је сликом 4.13.

⁶Construct a Profile HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10e/>.



Слика 4.13: Одређивање параметара профилног HMM [17]

4.4 Рад са профилима

Вероватноће се рачунају емпиријски, на основу улазног вишеструког поравнања. Претходна слика сваку од обојених ниски из поравнања (исти мотивациони пример као и досад, са прве слике 4.6) приказује као оптимални пут исте боје кроз профилни *HMM*. Веза између ниске као реда вишеструког поравнања и оптималног пута кроз профилни *HMM* једнозначна је. Уколико се у задржаној колони (чиста позадина) i налази емитовани симбол, пролази се кроз стање поклапања M_i . Ако задржана колона i складишти празнину „—”, пролази се кроз стање делеције D_i . Празнина се у пречишћеној колони (осенчена позадина) која се налази између задржаних колона i и $i + 1$ занемарује, док емитовани симболи означавају пролазак кроз стање инсерције I_i .

На основу одређених скривених путева, могуће је простим бројањем одредити колико често долази до неког прелаза, те расподелу емисија по сваком стању. Нека се разматра пример са слике 4.13, који садржи пет путева. Четири пута – сваки сем црвеног – пролазе кроз стање M_5 . Од њих, један пут – наранџasti – наставља у стање M_6 , док преостала три одлазе у стање I_5 . Овиме је одређена фреквенција дозвољених прелаза, па су вероватноће:

$$a_{M_5, I_5} = \frac{3}{4}, a_{M_5, D_6} = 0, a_{M_5, M_6} = \frac{1}{4}.$$

Аналогно се одређују вероватноће прелаза између осталих стања, укључујући специјално полазно и завршно. Ако емпиријски путеви не покривају све прелазе, као између M_5 и D_6 , што је сасвим уобичајено, вероватноћа прелаза сматра се непознатом, односно она је имплицитно нулта (недозвољени прелаз). Ово је један од примера када мапе не покривају цео простор вероватноћа, односно оне се не сумирају у јединицу, иако би то било очекивано.

И вероватноће опажања одређују се на основу фреквенција. На примеру стања M_5 , у сва четири прелаза емитован је симбол F . Стога је мапа следећа:

$$b_{M_5, A} = b_{M_5, B} = b_{M_5, C} = b_{M_5, D} = b_{M_5, E} = 0, b_{M_5, F} = \frac{4}{4} = 1.$$

Такође постоји доста непознатих емисија, па је удео имплицитних нула велик.

Приметно је да је у добијеним мапама значајан број непознатих вредности, што онемогућава добро оцењивање великог броја секвенци чије би декодирање ишло тим путевима. Њихова вероватноћа била би нула, што је проблем по ком тренутни модел личи на полазни ланац. Да је стварно тако, показује резултујућа мапа прелаза мотивационог примера, приказана на слици 4.14.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

	S	I_0	M_1	D_1	I_1	M_2	D_2	I_2	M_3	D_3	I_3	M_4	D_4	I_4	M_5	D_5	I_5	M_6	D_6	I_6	M_7	D_7	I_7	M_8	D_8	I_8	E
S		1																									
I_0																											
M_1						.8	.2																				
D_1																											
I_1																											
M_2									1																		
D_2										1																	
I_2																											
M_3											1																
D_3												1															
I_3																											
M_4													.8	.2													
D_4																											
I_4																											
M_5															.75	.25											
D_5																	1										
I_5																	.4	.6									
M_6																				.8	.2						
D_6																											
I_6																											
M_7																						1					
D_7																							1				
I_7																											
M_8																											1
D_8																											
I_8																											
E																											

Слика 4.14: Вероватноће прелаза мотивационог примера [17]

Моделом недозвољени прелази, попут $M_1 \mapsto M_5$, илустровани су ћелијама чисте позадине, док су могући прелази осенчени. Приметно је да је од укупно 75 дозвољених прелаза, само 19 евалуирano, док је преостала већина непозната – оне су имплицитно нулте. Како ово није пожељна особина, у наставку је превазиђено употребном малих вероватноћа за непознате прелазе.

Поменуто је већ да је главни проблем који то изазива лоше оцењивање многих секвенци и путева. Конкретан пример дат је у наставку. Други проблем је што овакве мапе не покривају цео простор вероватноћа, односно не сумирају се све излазне вероватноће у јединицу. Све ово се, међутим, лако превазилази увођењем псеудовредности σ , што су мале вероватноће дозвољених, али често непознатих прелаза и емисија. Оне се, дакле, додају у мапама на сва дозвољена места.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

Наравно, приликом додавања псеудовредности неопходно је применити нормализацију, како би збир вероватноћа био један. Примера ради, за $\sigma = 1/100$, ред $\{.75, .25, 0\}$ не постаје $\{.76, .26, .01\}$, већ $\{.738, .252, .01\}$. Исто тако, сасвим непознати ред $\{0, 0, 0\}$ за свако σ постаје $\{1/3, 1/3, 1/3\}$, уместо $\{1/100, 1/100, 1/100\}$ у конкретном случају. Такође, важно је напоменути да се псеудовредности додају искључиво дозвољеним прелазима, док недозвољени остају строго нулте вероватноће. Одређивање овако допуњеног профилног модела $HMM(P, \theta, \sigma)$ формално се представља кроз проблем 13.

Проблем 13: Одређивање допуњеног профилног модела⁷

Најправиши профилни HMM на основу вишеструког поравнања.

Улаз: поравнање P , граница θ , псеудовредност σ .

Излаз: допуњени профилни модел $HMM(P, \theta, \sigma)$.

Овиме је појам профилног скривеног Марковљевог модела комплетиран. Идеја оваквог модела заправо је двојака. Први циљ је већ поменута класификација, која улазу додељује скор припадности одређивањем вероватноће исхода (алгоритам „напред“). Додатно, могуће је одредити и само поравнање ниски са представљеном фамилијом, које се добија декодирањем улаза (Витербијев алгоритам).

О класификацији је већ било речи – одредити вероватноћу да протеин припада неким фамилијама, а затим га дodelити оној са највећим скором или макар скором који прелази постављену границу. На конкретном примеру предвиђања фенотипа ХИВ-а из увода, могла би постојати два HMM профила – један изграђен на основу изолата који стварају синцијум, а други према оним који га не стварају. Нов изолат за који је упитно ствара ли синцијум био би улазно опажање за алгоритам „напред“ над та два профила, а одговор на питање добио би се одабиром профила у односу на који је вероватноћа припадности изолата већа.

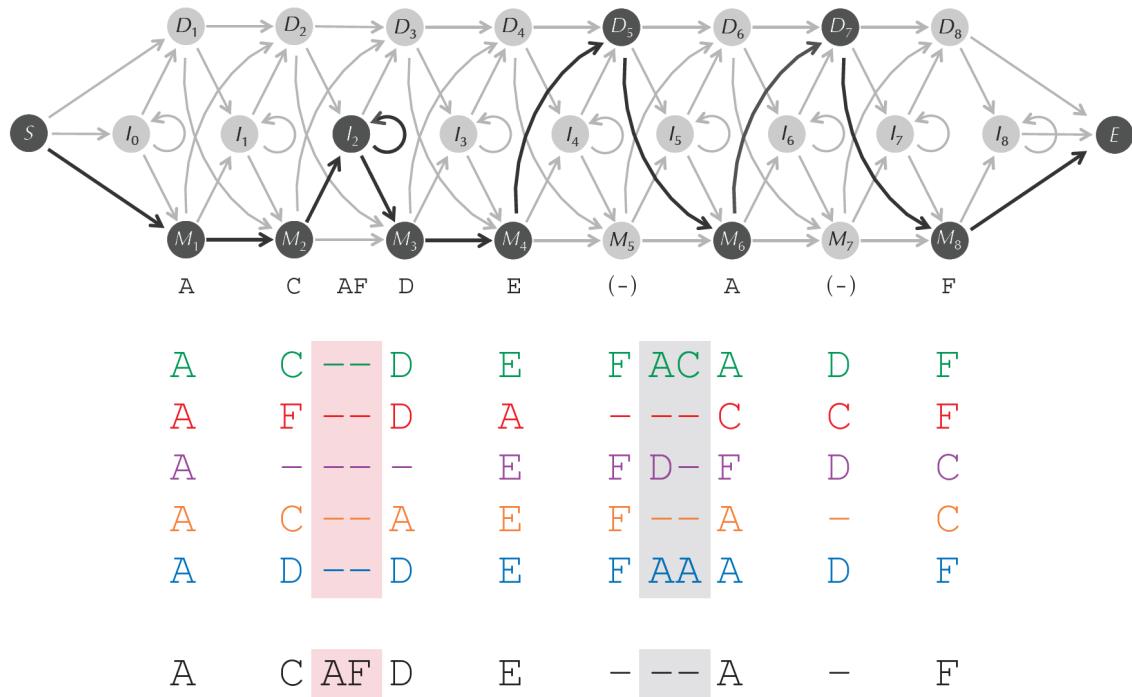
Одабрани профил се, штавише, опционо може проширити додавањем новог изолата у поравнање, а затим поновним израчунавањем параметара тог HMM -а. Ажурирањем профила, он временом све боље описује класу коју моделује, те постаје још прецизнији и употребљивији при класификацији.

⁷Construct a Profile HMM with Pseudocounts, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10f/>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

Овакав принцип може се уопштити на све друге секвенцијалне податке. Прави се, дакле, по један *HMM* профил за сваку могућу класу, а затим се профили пореде са улазном секвенцом, која се класификује. Инстанци се додељује она класа са највећом вероватноћом опажања. За рад са генима и протеинима, на интернету је бесплатно доступан претраживач *HMMER*⁸, управо заснован на припремљеним скривеним Марковљевим моделима.

Када је реч о другом циљу, поравнање ниске са профилом добија се непосредно као резултат декодирања. Пример тога дат је на слици 4.15.



Слика 4.15: Пример поравнања мотивационог примера [17]

Приказан је оптимални пут $SM_1M_2I_2I_2M_3M_4D_5M_6D_7M_8E$ кроз досад разматрани профилни *HMM* за ниску (опажање) $ACAFDEAF$. Ваља приметити да је овај пут иначе немогућ (нулте вероватноће) без употребе псеудовредности, јер је нпр. вероватноћа прелаза $M_2 \rightarrow I_2$ непозната, па самим тим имплицитно нулта без неког σ . У бојама је, као и досад, приказана петорка из почетног вишеструког поравнања, док је ниска која се поравњава црна.

Конкретно, заједничко вишеструко поравнање је следеће. Прва два симбола емитована су из стања поклапања M_1 и M_2 , тако да се налазе у првој,

⁸HMMER: biosequence analysis using profile hidden Markov models. алат бесплатно доступан на интернет адреси: <http://hmmer.org/>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

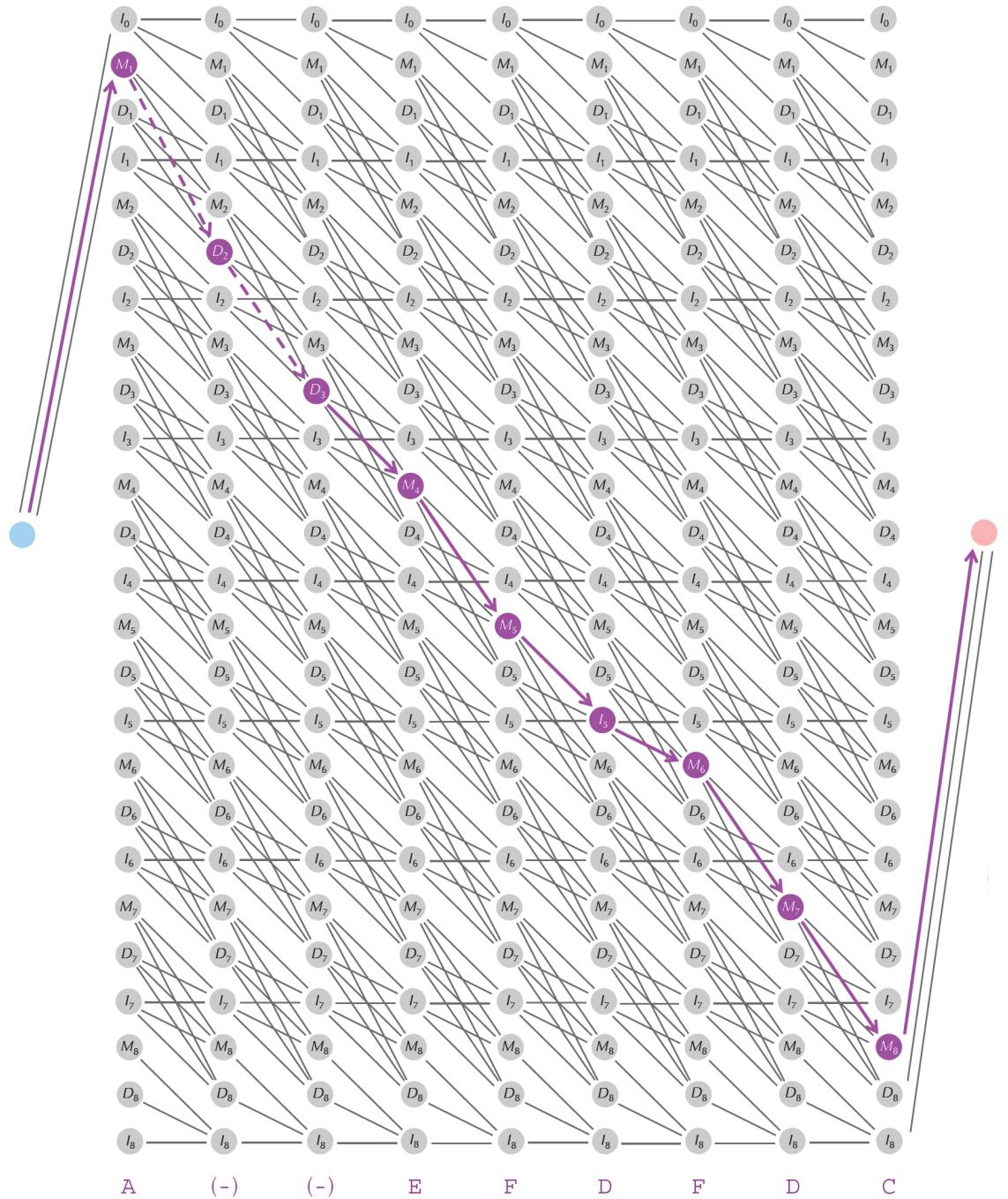
односно другој колони поравнања. Следећа два симбола емитована су из стања инсерције I_2 , тако да се налазе између друге и треће колоне, што је назначено розе сенком. Како је то посебан додатак за нову ниску, полазној петорци једноставно се додају по две празнине. Наредна два симбола емитована су из стања поклапања M_3 и M_4 , тако да се налазе у трећој, односно четвртој колони поравнања. Следеће на путу јесте тихо стање делеције D_5 , тако да нема емисије, већ се у пету колону поравнања ставља симбол празнице „–“. Наредни симбол емитован је из стања поклапања M_6 , па се ставља у шесту колону поравнања. Пре њега није било инсерција, тако да се две пречишћене колоне попуњавају празнинама. Следи тихо стање делеције D_7 , што значи да се у седму колону ставља празнина, док је последњи симбол емитован из стања поклапања M_8 , те се ставља у осму колону поравнања.

Како би поравнање било добро одређено, неопходно је пратити текући карактер нове ниске која се поравнива са фамилијом, односно кренути од првог слова и померати „показивач” када дође до емисије. Ошта правила поравнања сумирају се следећим списком смерница за тумачење стања оптималног скривеног пута:

- пролазак кроз стање поклапања M_i заправо представља емитовање текућег симбола, те поставља тај симбол управо у колону i поравнања,
- пролазак кроз стање инсерције I_i такође представља емитовање текућег симбола, али поставља тај симбол између колона i и $i + 1$ поравнања,
- пролазак кроз стање делеције D_i оставља текући симбол на чекању, те поставља алтернативни симбол празнице „–“ у колону i поравнања.

Поравнање је смислено уколико су проласком кроз скривени пут потрошени сви карактери улазног опажања, што се осигурува позадинским алгоритмом. Такође, уколико је циљ истовремено поравнање и са оригиналним и са пречишћеним вишеструким поравнањем, као на слици 4.15, неопходно је посебно пазити да ли се прелази преко пречишћеног дела (сиво сенчење). Ипак, углавном је доволјно поравнати ниску само са пречишћеном верзијом.

Остаје још питање како тачно наћи оптимални скривени пут. Јасно је да се може применити Витербијев алгоритам, који је досад коришћен за проблем декодирања. На слици 4.16 приказан је Витербијев граф и одговарајући скривени пут за љубичасто опажање $A E F D F D C$ из мотивационог примера.



Слика 4.16: Наивни Витербијев граф профилног HMM [17]

Подсећања ради, основа Витербијевог графа је мрежа чвортова чије редове чине сва могућа скривена стања (у конкретном случају профилног модела, за $n = 8$, има их 25, без експлицитног почетног и завршног, а у општем $3n + 1$), док колоне означавају ток времена, тренутак t . Из сваког чврора у колони $t - 1$ усмерена је по једна грана у сваки чврор из колоне t , али искључиво ако

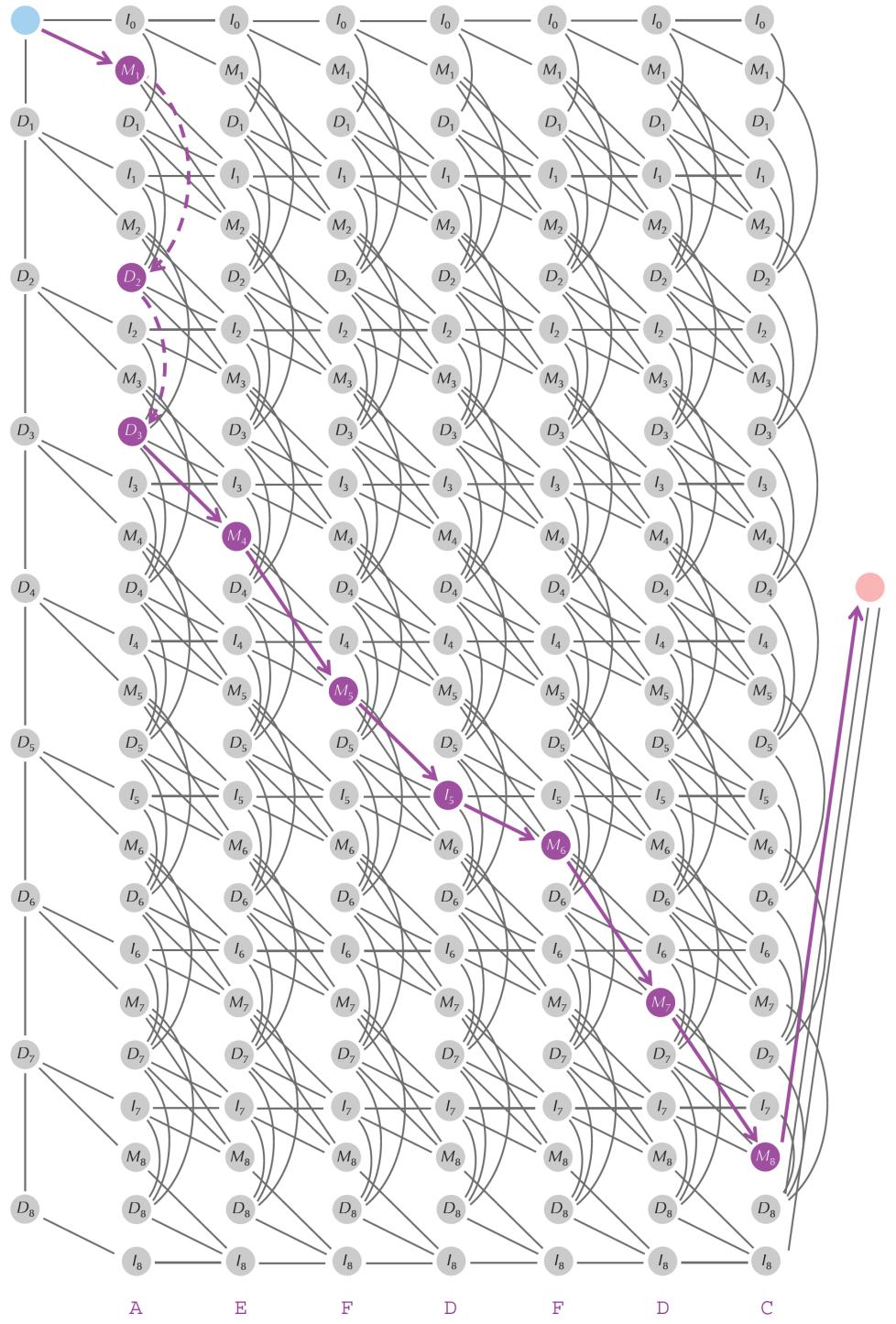
ГЛАВА 4. Биолошки значај

је дозвољен прелаз између та два стања. Тако је на основу чињенице да се из сваког стања у тренутку $t - 1$ може прећи у било које стање у тренутку t , уколико је вероватноћа преласка ненулта. Поред ове основе, мрежа има и два посебна чвора – извор (експлицитно почетно стање – плави кружић) и понор (експлицитно завршно стање – црвени кружић). Из извора иду три гране – ка I_0 , M_1 и D_1 – док у понор увиру такође само три гране – од M_8 , D_8 и I_8 (односно од индекса n уместо 8 у општем случају). Број колона (тренутака) заправо је дужина пута k , а замисао овакве мреже управо и јесте да истовремено моделује све скривене путеве дужине k кроз упитни *HMM*.

Проблем код графа са слике 4.16 управо је превише прецизно одабран број колона. Приказани граф као да зна да је оптимални пут дужине $k = 9$, а љубичасто опажање заправо $A - EFDFDC$ уместо $AEFDFDC$. Овакво знање, међутим, не може бити доступно пре покретања алгоритма, што значи да граф са слике 4.16 технички и није Витербијев. Штавише, могао би се направити већи број графова сличних претходном, али нпр. без друге и/или треће колоне, и потпуно једнако употребити за одређивање оптималног пута. Резултат, међутим, не би био тачан, јер би се разматрали само путеви дужине $k < 9$, па се свакако не би могао добити оптимални, чија је дужина $k = 9$.

Витербијев граф стога мора имати фиксан број колона, и то овде тачно $k = 7$. То је заправо број емитованих симбола, односно дужина познатог опажања, а не непознатог скривеног пута. Ово пре увођења стања делеције није било проблематично, пошто су дужина опажања и дужина оптималног скривеног пута увек биле једнаке. Тиха стања, међутим, нарушују ову једнакост. У конкретном случају профилних *HMM*, опажање дужине k може настати на скривеном путу који је најмање дужине баш k , уколико пут садржи само стања поклапања, а највише $n + k$, уколико пут не садржи ниједно стање поклапања. Сада је циљ Витербијевим графиком са k колона некако моделовати путеве различитих дужина, а на којима се емитује тачно k симбола.

Проблем, дакле, праве тиха стања делеције, пошто мењају смисао чвора (x_i, t) графа. Првобитно, пролазак кроз тај чвор значио је да се у тренутку t модел налази у стању x_i , односно да је симбол o_t улазног опажања o емитован из стања x_i . Ово, међутим, нема смисла код тихих стања, која ништа не приказују. Поправљени Витербијев график приказан је на слици 4.17.



Слика 4.17: Коначни Витербијев граф профилног HMM [17]

Смисао се сада допуњује у следећи: пролазак кроз чвр (x_i, t) графа значи да се HMM налазио у стању x_i када је емитовао симбол o_t уколико стање x_i није тихо, односно да се налазио у тихом стању x_i након емитовања симбола

ГЛАВА 4. Биолошки значај

o_t , а пре емитовања o_{t+1} . У конкретном случају профилних модела, пролазак кроз (M_i, t) или (I_i, t) значи да је у стању поклапања M_i или инсерције I_i емитовано o_t , док пролазак кроз (D_i, t) означава да је аутомат био у тихом стању делеције D_i између емитовања суседних симбола опажања o_t и o_{t+1} .

У коначној верзији Витербијевог графа са слике 4.17, претходно објашњена допуна смисла очитава се двема променама. Прво, сваки прелаз у стање делеције, дакле прелаз облика $I_i \mapsto D_{i+1}$, $M_i \mapsto D_{i+1}$ или $D_i \mapsto D_{i+1}$, сада се дешава у оквиру исте колоне. Ово непосредно осликова чињеницу да делеција не емитује нови симбол, што значи да индекс (тренутак) t остаје непромењен. Наравно, преласци ка стањима поклапања или инсерције остају скок у следећу колону, пошто за собом повлаче нову емисију. Ово значи да једна колона строго одговара опажању једног симбола, мада се то може десити проласком кроз различите скривене путеве, што је и био циљ.

Друга промена одговара проширењу нулте колоне, у којој се досад налазио само извор. Она се проширује низом (ланцем) повезаних стања делеције, свим могућим од D_1 до D_8 , односно D_n у општем случају. Наиме, уколико не би било тог проширења, пут би завршио у ћорсокаку уколико би започео првим стањем делеције D_1 у првој колони. Прелази су једноставно такви да након уласка у стање делеције није више могуће емитовати симбол у текућој колони. Стога се тај прелаз пребацује у нулту колону, сачињену искључиво од тихих стања. Подразумевано, све гране у истој колони оријентисане су надоле, док су прелази између колона оријентисани надесно. И слика 4.17, попут претходне, декодира љубичасту ниску *A E F D F D C* из уводног поравнања.

Поравнање помоћу профилног *HMM*-а формално се дефинише кроз проблем 14. Реч је, дакле, о нешто напреднијем декодирању, измененој верзији проблема 1. Решење оба је Витербијев алгоритам, само се разликује Витербијев граф над којим се ради, пошто сад постоје и тиха стања делеције.

Проблем 14: Поравнање са профилним моделом⁹

Поравнајти нову ниску са фамилијом – профилни HMM.

Улаз: вишеструко поравнање P , граница одсецања θ ,
псеудовредност σ , нова ниска (опажање) o .

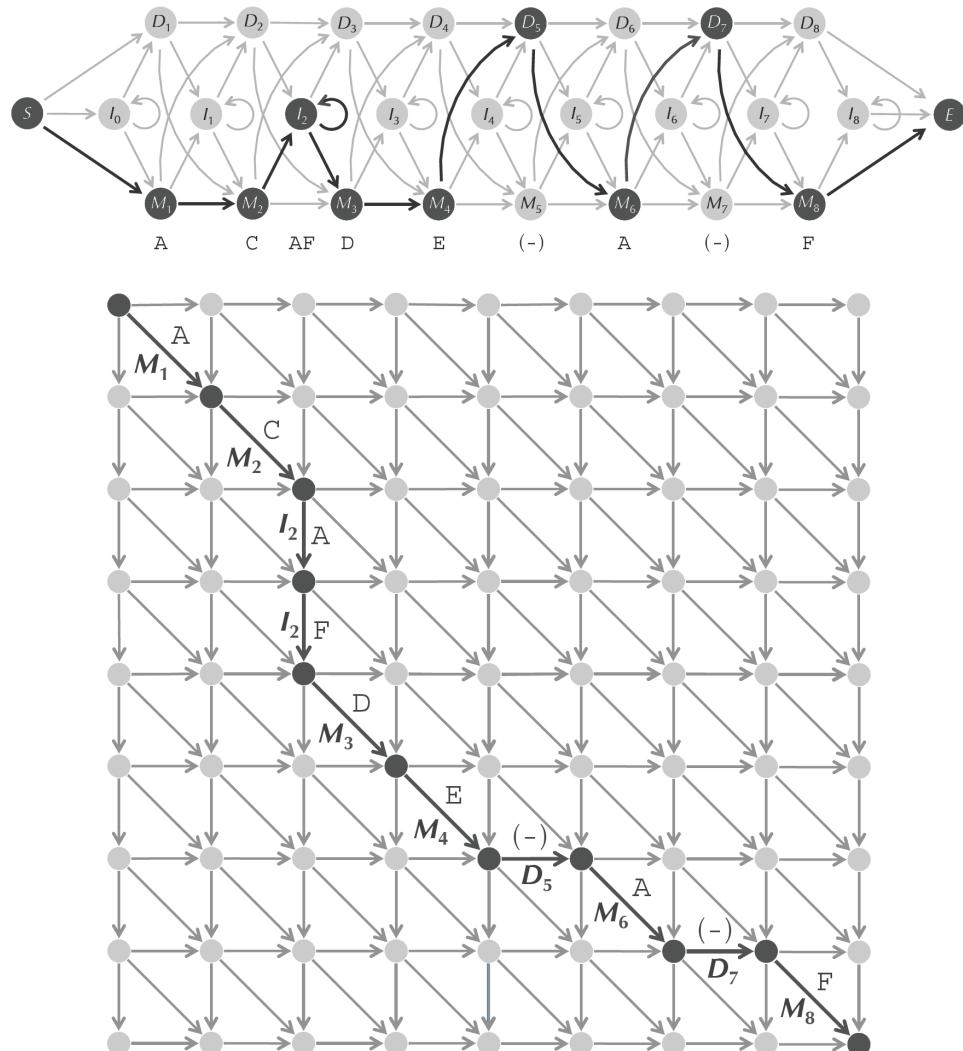
Излаз: оптимални пут r кроз $HMM(P, \theta, \sigma)$ за ниску o .

⁹Perform a Multiple Sequence Alignment with a Profile HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10g/>.

ГЛАВА 4. Биолошки значај

На сличан начин је, иначе, могуће конструисати Витербијев граф за произвољни *HMM* са тихим стањима. Једини услов који мора да буде испуњен јесте да не постоје петље или циклуси који се састоје искључиво од тихих стања. У супротном, није могуће решити проблем декодирања, али ни друге сличне проблеме засноване на Витербијевом графу (алгоритам „напред“ итд.).

Ово је аналогно чињеници да није могуће решити проблем оптималног обиласка Менхетн графа са циклусима. Разлог томе је што се, како код Менхетн, тако и код Витербијевог графа, вредности морају рачунати према тополошком редоследу чворова. Другим речима, неопходно је да буду познате све родитељске вредности како би се евалуирао нови, текући чвр.



Слика 4.18: Поређење поравнања мотивационог примера [17]

Граф, дакле, мора бити без циклуса – усмерени ациклички граф. Топо-

ГЛАВА 4. Биолошки значај

лошки редослед у супротном не постоји. У конкретном случају профилних *HMM*, уобичајен редослед рачунања је слева надесно, од врха надоле. Ус-пут се, наравно, чувају путокази, како би се оптимални пут на крају могао реконструисати. Без њих, добила би се само вероватноћа најбољег пута.

Сличност између Витербијевог и Менхетн графа није случајна. Испоставља се да нису само аналогни проблеми, већ и структуре. На слици 4.18 приказана је њихова наизглед једнакост на познатом примеру ниске *ACAFDEAF* и њеног поравнања са слике 4.15. Слика илуструје како пут у Менхетн графу одговара скривеном путу кроз профилни *HMM*. Дијагоналне ивице Менхетн графа одговарају поклапањима, усправне инсерцијама, а водоравне делецијама. Важно је истаћи да ова аналогија ипак није једнакост (еквиваленција), пошто код *HMM*-а постоје променљиве вероватноће (тежине) прелаза и емисија, што није могуће моделовати помоћу Менхетн графа.

Способност профилних скривених Марковљевих модела да различито оцењују различите колоне матрице поравнања издваја их као прецизније у односу на једноставне методе поравнања засноване на једној матрици са истим скоровима. Профилни модели тако могу уочити суптилне сличности, које једноставна поравнања пропуштају. Упркос тој предности, сложеност остаје подједнако добра, и износи $O(nk)$ за n колона (дужина полазног поравнања) и k редова (дужина опажања).

Код Менхетн графа је сложеност очигледна, јер се оперише над матрицом димензија $n \times k$, где се вредност сваког чвора израчунава кроз највише три гране. Ни код профилних *HMM* није тешко одредити је. Већ је више пута напоменуто да је сложеност Витербијевог алгоритма сразмерна броју грана у Витербијевом графу. У општем случају, када се из сваког стања може прећи у било које друго, износи $O(n^2k)$, што је последица постојања по n прелаза између n стања у $k - 1$ промени тренутка. Код профилних *HMM*, међутим, постоји већи број стања $3n + 1$, као и већи број промена тренутка k , али је прелаза највише по три (константа), тако да је асиптотски производ $O(nk)$.

За крај, следе тачне формуле максимизације вероватноће пута у чворо-вима Витербијевог графа код профилних *HMM* са n колона поравнања за познато опажање o дужине k . Још једном, нека мапа скорова s буде таква да $s_{x_i,t}$ складишти вероватноћу оптималног пута дужине t који се завршава скри-веним стањем x_i . У конкретном случају, уместо општих стања x_i , одвојено се разматрају специјализована стања поклапања M_i , делеције D_i и инсерције I_i .

ГЛАВА 4. Биолошки значај

База рекурзије овако постављеног проблема јесте (први чланови низа):

$$\begin{array}{c} (i=1) \\ (t=1) \end{array} s_{M_1,1} = a_{S,M_1} \cdot b_{M_1,o_1},$$

$$\begin{array}{c} (i=1) \\ (t=0) \end{array} s_{D_1,0} = a_{S,D_1},$$

$$\begin{array}{c} (i=0) \\ (t=1) \end{array} s_{I_0,1} = a_{S,I_0} \cdot b_{I_0,o_1}.$$

Рекурзивне формуле максимизације су (непостојећи индекси се занемарују, а ради краћег записа уводи се помоћни скуп типова стања $X = \{M, D, I\}$):

$$\begin{array}{c} (\forall i \in \{2, \dots, n\}) \\ (\forall t \in \{2, \dots, k\}) \end{array} s_{M_i,t} = \max_X \{s_{X_{i-1},t-1} \cdot a_{X_{i-1},M_i} \cdot b_{M_i,o_t}\},$$

$$\begin{array}{c} (\forall i \in \{2, \dots, n\}) \\ (\forall t \in \{1, \dots, k\}) \end{array} s_{D_i,t} = \max_X \{s_{X_{i-1},t} \cdot a_{X_{i-1},D_i}\},$$

$$\begin{array}{c} (\forall i \in \{1, \dots, n\}) \\ (\forall t \in \{2, \dots, k\}) \end{array} s_{I_i,t} = \max_X \{s_{X_i,t-1} \cdot a_{X_i,I_i} \cdot b_{I_i,o_t}\}.$$

Коначан оптимални (највероватнији) пут добија се додатном максимизацијом:

$$P(p_{opt}, o) = \max_p P(p, o) = \begin{array}{c} (i=n) \\ (t=k) \end{array} \max_X \{s_{X_n,k} \cdot a_{X_n,E}\}.$$

Као и досад, аналогно се формирају логаритамске верзије формула, које множење мењају сабирањем, чиме се смањује грешка у рачуну, а проблем додатно приближава Менхетн графу. Идентична је и општа верзија формула са произвољним тежинама τ . Поред декодирања као проблема 14, једнако се приступа и осталим задацима заснованим на Витербијевом графу – табела 3.1. Решење је такође у одабиру одговарајућих оператора уместо максимума.

Глава 5

Учење модела

У претходним главама је приказана употреба скривених Марковљевих модела у решавању биолошких проблема који се могу схватити како као задачи надгледаног (класификација протеина), тако и ненадгледаног машинског учења (означавање *CG* острва). Ова глава садржи још једну важну особину *HMM* у вези са машинским учењем – способност учења поткрепљивањем. Претходно је било речи о готовим моделима, али прави потенцијал *HMM* показују тек када се сви параметри модела науче. Успут је предочен и један нов и кориснији поглед на већ познати проблем декодирања.

5.1 Витербијево учење

У оквиру одређивања профилних *HMM* на основу улазног вишеструког поравнања, представљена је хеуристика за процену њихових параметара – мапа вероватноћа прелаза и емисија. Подсећања ради, идеја се састоји из следећих корака: свака ниска из поравнања сматра се једним опажањем (све ниске чине узорак), на основу поравнања непосредно и једнозначно се одређује позадински скривени пут, прелази и емисије симбола преbroјавају се проласком кроз претходно одређене путеве, а на крају се број појављивања нормализује у удео, који је управо претпостављена вероватноћа према улазном узорку.

Поставља се питање да ли је овај једноставни приступ могуће уопштити на произвољан *HMM*. Одговор је у општем случају одричан, пошто није могуће на основу опажања непосредно одредити скривени пут на коме је оно настало. Могуће је одредити највероватнији такав пут, али једино ако су параметри већ познати, што код овог проблема није случај. Одговор је, међутим, потврдан

ГЛАВА 5. Учење модела

уколико је уз опажање познат позадински пут. Тада је доволно приступити пребројавању и одређивању удела, као код *HMM* профиле. Овакво надгледано учење параметара модела формално се представља проблемом 15.

Проблем 15: Надгледано учење параметара¹

*Наћи оптималне параметре *HMM*-а према обележеном узорку.*

Улаз: скривени пут $p = p_1 \dots p_k$ кроз *HMM* са непознатим параметрима и ниска $o = o_1 \dots o_k$ емитована на том путу.

Излаз: оптимални параметри, који максимизују $P(p, o)$.

Мада се испоставља да учење из обележеног узорка даје глобално оптималне параметре – такве да максимизују заједничку вероватноћу улазног исхода и пута на ком је настао, овај приступ често није применљив. Скривена стања су по правилу стварно скривена, те нису доступни парови опажања и путева, већ само опсервације. Стога је следећи задатак нешто амбициознији – одредити параметре само на основу опажања, према проблему 16.

Проблем 16: Ненадгледано учење параметара^{2,3}

*Наћи оптималне параметре *HMM*-а према узорку означања.*

Улаз: ниска $o = o_1 \dots o_k$ и *HMM* са непознатим параметрима који ју је емитовао проласком кроз такође непознати пут $p = p_1 \dots p_k$.

Излаз: оптимални параметри, који максимизују $P(p, o)$.

На примеру непоштеног казина, проблем 15 односио се на одређивање пристрасности (вероватноће главе) непоштеног новчића ако је јаван податак када га крупије баца. Како крупије то вешто крије, сада је решењем општијег проблема 16 циљ доћи до тог податка само на основу увек познатог низа исхода – у ком бацању је пала глава, а у ком писмо.

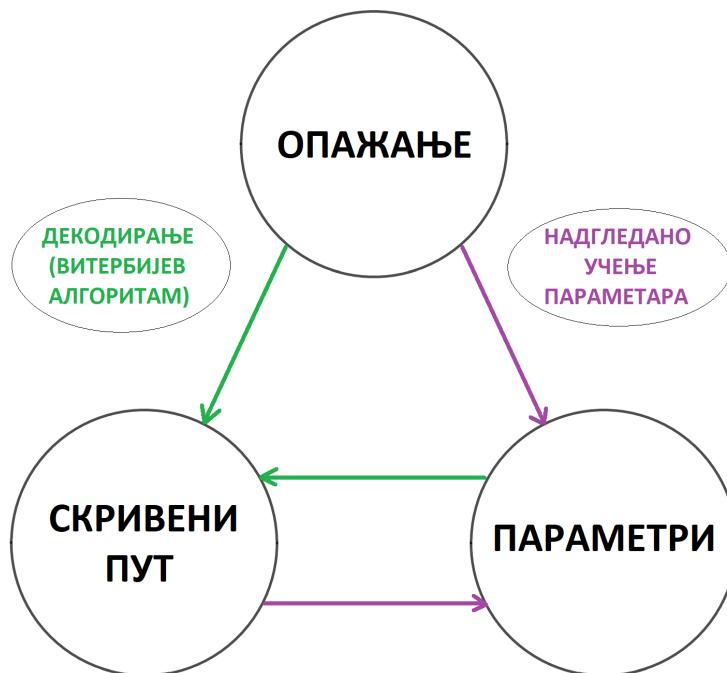
Добри резултати могу се добити итеративном хеуристиком попут оне која је основа Лојдовог алгоритма. Реч је о алгоритму који решава проблем кластеровања k -средина. У случају скривених Марковљевих модела, параметри P случајно се иницијализују, чиме се за почетак добијају насумичне вероватноће. Затим се улазна ниска o декодира (проблем 1), чиме се добија скривени

¹Estimate the Parameters of an HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10h/>.

²Implement Viterbi Learning, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10i/>.

³Implement Baum-Welch Learning, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10k/>.

пут p по принципу $(o, ?, P) \mapsto p$. Потом се израчунавају нови параметри (проблем 15), по принципу $(o, p, ?) \mapsto P$, и тако наизменично. Ово је познати алгоритам максимизације очекивања (*EM/A*), према енгл. *expectation-maximization algorithm*), који се илуструје дијаграмом са слике 5.1.



Слика 5.1: Максимизација очекивања код *HMM*

Овакав ненадгледани приступ учењу параметара модела назива се Витербијевим учењем, пошто му је у основи Витербијев алгоритам за декодирање. Тадео алгоритма представља корак очекивања (*E* корак), док је надгледано одређивање параметара које следи корак максимизације (*M* корак). Дубљом анализом, испоставља се да је ненадгледана оптимизација параметара *HMM*-а тежак проблем, тако да је Витербијево учење сасвим задовољавајућа хеуристика. Најважнија особина му је то што је вредност $\max_p P(p, o)$ за улазно опажање o због природе *EM* алгоритма током оптимизације монотоно неопадајућа. То значи да су сваком итерацијом параметри ближи најбољим.

Наравно, како је и иначе случај код хеуристичких приступа, није необично заглављивање алгоритма у локалном максимуму, тако да резултат умногоме зависи од почетних вредности параметара. Како су оне случајне, уобичајена тактика за добијање бољих резултата јесте покретање алгоритма учења већи број пута, а затим узимање најбољих параметара из свих покретања. По

ГЛАВА 5. Учење модела

питању критеријума заустављања, најчешћа су два: унапред одређени број итерација или граница (минимум) повећања вероватноће која се максимизује.

Поред случајне иницијализације параметара на почетку алгоритма, могуће је кренути од неких унапред одређених, односно познатих параметара. У том случају циљ није (само) ненадгледано их научити, већ профинити претходне. Тада је Витербијево учење прави пример учења поткрепљивањем, јер се параметри прилагођавају новим околностима на основу нових опажања.

Уколико је критеријум број итерација, у овој верзији их је обично мање, јер у супротном долази до добијања екстремних вредности, што се може претпоставити као преприлагођавање модела. На примеру непопуларне коцкарнице, већи број итерација код поткрепљивања доводи до закључка да је вероватноћа пада главе код пристрасног новичића јединична, а писма нулта. Овакво понашање, с друге стране, може бити пожељно баш због способности откривања екстремних вредности. У случају коцкарнице, након поткрепљивања нема сумње да је пристрасни новчић управо онај са јединичном вероватноћом главе, иако је пристрасност на почетку можда била релативно мала.

Познату примену *HMM* овог типа у лингвистици осмислили су 1980. године Кејв и Нојвирт [15], док су је други аутори касније проширили [35]. Илустративна претпоставка је да научник Марсовац жели да сазна нешто о писаном језику Земљана. За те потребе набавио је велику количину текста, на пример корпус енглеског језика. Пало му је на памет да покуша да слова језика подели на статистички значајно различите скупове, што моделује управо помоћу скривених Марковљевих модела, за које је стручњак. Како је реч о енглеском језику, могућих симбола је двадесетак, за свако слово по један (код осталих језика би их било више или мање), а Марсовац је одабрао да постоје само два скривена стања, како би модел остао једноставан. Параметре модела је случајно (скоро равномерно) иницијализовао, а затим је покренуо ненадгледано поткрепљивање, користећи текст корпуса као улазно опажање.

Резултујућа мапа емисија прилично је занимљива – испоставља се да је сваки самогласник скоро сигурно опажен у једном стању, а сугласник у другом. Овиме је, дакле, Марсовац добио практично савршену поделу (группирање – кластеровање) симбола о којима ништа не зна на вокале и консонантне, што без проблема може да закључи на основу добијених екстремних вероватноћа емисија. Још неки занимљиви резултати могу се добити употребом већег броја стања, посебно дванаест, о чему се детаљније може прочитати у цити-

раном раду. На сличан начин функционише и решавање других проблема ненадгледаног учења помоћу *HMM*, мада се чешће уместо Витербијевог користи моћније Баум-Велчово учење, о коме ће бити речи у наставку.

5.2 Баум-Велчово учење

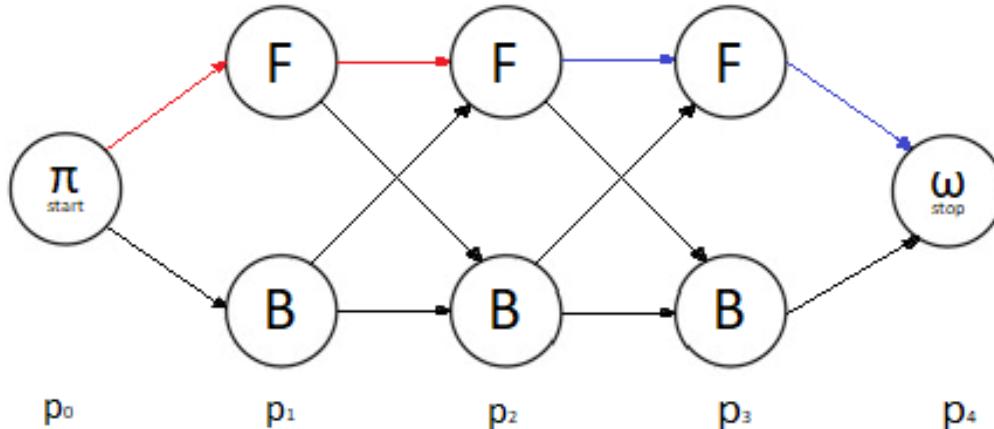
У тексту посвећеном општем опису скривених Марковљевих модела, било је речи о одређивању вероватноће опажања дужине k , кроз проблем 7. Као решење, изложен је алгоритам „напред”, заснован на мапи f (од енгл. *forward*), чији елемент $f_{x_i,t}$ складишти вероватноћу префикса опажања дужине t (подниз $o_1 \dots o_t$), насталог на скривеном путу који завршава стањем x_i .

Аналогно се формира обрнута мапа w (од енгл. *backward*), чији елемент $w_{x_i,t}$ складишти вероватноћу суфиксa опажања дужине $k-t+1$ (подниз $o_t \dots o_k$), насталог на скривеном путу који започиње стањем x_i . Мапа такође садржи вероватноћу целог опажања, а попуњава се на исти начин као претходна, праћењем Витербијевог графа, само обрнутим редоследом. Овакав приступ назива се алгоритам „назад” и код њега важе следеће рекурентне формуле:

$$\begin{aligned} w_{x_i,k} &= 1, \\ w_{x_i,t} &= \sum_j a_{x_i,x_j} \cdot b_{x_j,o_{t+1}} \cdot w_{x_j,t+1}, \\ P(o) &= \sum_j \pi_{x_j} \cdot b_{x_j,o_1} \cdot w_{x_j,1}. \end{aligned}$$

Још једном, аналогно се изводе логаритамске верзије претходних формула.

Спајањем алгоритма „напред” и „назад”, добија се нов и кориснији поглед на проблем декодирања. Наиме, сваки пут кроз Витербијев граф може се пресећи у неком чвиру и тако поделити на два дела. Како то изгледа на примеру пута *FFF* у непоштеној коцкарници, пресеченог у средњем чвиру, дато је на слици 5.2. Префикс је наглашен црвеном, а суфикс плавом бојом.



Слика 5.2: Подела пута кроз граф са три бацања

Вероватноћа првеног префикса дужине t са пресеком у стању x_i може се израчунати алгоритмом „напред” као вредност $f_{x_i,t}$ из мапе, док се вероватноћа одговарајућег плавог суфикса израчунава као $w_{x_i,t}$ из алгоритма „назад”. Како вредност из мапе f покрива све могуће префиксне, а вредност из w све суфиксне, они заједно покривају све могуће путеве који у тренутку t пролазе кроз стање x_i . Стога је њихов производ заправо заједничка вероватноћа да је HMM емитовао ниску o , при чему је у тренутку t био баш у стању x_i :

$$P(p_t = x_i, o) = f_{x_i,t} \cdot w_{x_i,t}.$$

Оваква комбинација назива се алгоритам „напред-назад” и њен значај огледа се управо у томе што даје вероватносни резултат за све тренутке и сва стања. Претходно је моделована заједничка вероватноћа $P(p, o)$, чијом се максимизацијом Витербијевим алгоритмом добија један конкретан цео највероватнији пут. Добија се, дакле, „чврсто” решење проблема декодирања, према коме је HMM у неком тренутку био у тачно одређеном стању.

Нови приступ, с друге стране, даје нов поглед на проблем утолико што сваком стању додељује по вероватноћу у сваком тренутку. Ово је аналогно „меком” кластеровању, које је надградња Лојдовог алгоритма, па се назива и „меким” декодирањем. Задатак се формално представља проблемом 17.

Резултат оваквог декодирања није пут дужине k , већ низ k расподела стања. Расподеле се нормализују, како би се добила условна вероватноћа:

$$P(p_t = x_i | o) = \frac{P(p_t = x_i, o)}{P(o)} = \frac{f_{x_i,t} \cdot w_{x_i,t}}{\sum_j f_{x_j,k}} = \frac{f_{x_i,t} \cdot w_{x_i,t}}{\sum_j \pi_{x_j} \cdot b_{x_j,o_1} \cdot w_{x_j,1}}.$$

Проблем 17: „Меко” декодирање приказа⁴

Одредиши вероватноћу да је HMM у неком тренутку био у неком скривеном стању, ако је познато овајсавање.

Улаз: ниска $o = o_1 \dots o_k$ и $HMM(a, b, \pi)$ који ју је емитовао.

Излаз: условна вероватноћа стања у тренутку $P(p_t = x_i | o)$.

Посебно је занимљиво истаћи да стање p_t добијено Витербијевим алгоритмом није нужно једнако стању p_t максималне вероватноће према алгоритму „напред-назад”. Стога постоји и „чврста” верзија „меког” декодирања, која у сваком тренутку одабира највероватније p_t . Она се назива апостериорним (*MAP*, према енгл. *maximum a posteriori*) декодирањем и може дати боље резултате од Витербија. Поређење приступа на примеру *HMM* за проналажење *CG* острва дато је у коду електронске лекције, где су наглашене разлике.

Поред пресецања графа у неком чвору, чиме се добија условна вероватноћа $P(p_t = x_i | o)$, могуће је фиксирати произвољну потпутању и израчунати њену вероватноћу помоћу алгоритма „напред-назад”. Наиме, доволно је помножити вероватноће одговарајућег префикса, суфиксa и тежине грана фиксираног сегмента. Посебно је значајно када је фиксирана једна грана, што је условна расподела $P(p_t = x_i, p_{t+1} = x_j | o)$. У том случају, тражи се вероватноћа да је, емитујући ниску o , упитни *HMM* у тренутку t био у скривеном стању x_i , а затим прешао у стање x_j . Она се израчујава следећом формулом:

$$P(p_t = x_i, p_{t+1} = x_j | o) = \frac{f_{x_i, t} \cdot a_{x_i, x_j} \cdot b_{x_j, o_{t+1}} \cdot w_{x_j, t+1}}{\sum_l f_{x_l, k}}.$$

Условне вероватноће пролаза кроз фиксирани чвор у неком тренутку обично се табелирају у такозвану мапу одговорности Π^* . Она је димензија $n \times k$, а њен елемент $\Pi_{x_i, t}^*$ складишти $P(p_t = x_i | o)$. На сличан начин се формира тродимензиона мала одговорност Π^{**} , која табелира условне вероватноће пролаза кроз фиксирану грану у неком тренутку. Она је димензија $n \times n \times (k - 1)$, а њен елемент $\Pi_{x_i, x_j, t}^{**}$ складишти $P(p_t = x_i, p_{t+1} = x_j | o)$. Ове мапе се заједно означавају као параметри Π и граде се према опажању o .

Сада је могуће преформулисати *EM* алгоритам са слике 5.1, и то простом заменом корака. Наиме, **E** корак $(o, ?, P) \mapsto p$ мења се кораком очекивања $(o, ?, P) \mapsto \Pi$, док се **M** корак $(o, p, ?) \mapsto P$ мења аналогним кораком максимизације $(o, \Pi, ?) \mapsto P$. Разлика је, дакле, у томе што се више не тражи „чврсто”

⁴Solve the Soft Decoding Problem, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10j/>.

ГЛАВА 5. Учење модела

декодирани скривени пут p , већ у претходном пасусу дефинисани параметри Π , који се добијају „меким” декодирањем, односно алгоритмом „напред-назад”. Овако изменjeni алгоритам назива се Баум-Велчово учење и испоставља се да проналази оптималније параметре модела од Витербијевог учења. Реч је, дакле, о бољем решењу проблема 16 – ненадгледаног учења параметара.

Корак очекивања спроводи се алгоритмом „напред-назад”, како је претходно описано. Остаје још питање како спровести корак максимизације. Подсећања ради, код Витербијевог учења, декодирањем се добијају тачно један највероватнији скривени пут, тако да се израчунавање параметара модела сводило на просто преbroјавање и нормализацију. У „мекој” верзији то није могуће, јер пут није познат, већ су на располагању многобројне условне вероватноће дате мапама одговорности Π . Могуће је, међутим, нешто слично.

Дубљом статистичком анализом, која превазилази оквире лекције, долази се до закључка да се резултат ранијег преbroјавања прелаза може прочитати непосредно из мапе одговорности Π^{**} , док се резултат ранијег преbroјавања емисија може аналогно прочитати из мапе одговорности Π^* . Претечу оваквог приступа развили су 1970. године Баум и сарадници [11], док је каснијем профињавању алгоритма значајно допринео Велч [40], што објашњава назив алгоритма. Формално извођење може се пронаћи у цитираној литератури.

Интуитивно, већ се у „чврстој” верзији проблема сваки прелаз и емисија могу представити индикаторима A , односно B . Уколико је у тренутку t дошло до емисије из стања x_i , важи $B_{x_i,t} = 1$, а за остала стања $(\forall j \neq i)B_{x_j,t} = 0$. Исто, тако, уколико се из стања x_i након тренутка t препшло у стање x_j , важи $A_{x_i,x_j,t} = 1$, а за остала стања $(\forall l \neq j)A_{x_i,x_l,t} = 0$. На нивоу једног „чврстог” пута, ово су тачне дегенерисане вероватноће прелаза и емисија – јединичне и нулте. У „мекој” верзији проблема, аналогони су им условне вероватноће пролаза кроз грану или стање. Другим речима, важи управо следеће:

$$A_{x_i,x_j,t} = P(p_t = x_i, p_{t+1} = x_j | o) = \Pi_{x_i,x_j,t}^{**},$$

$$B_{x_i,t} = P(p_t = x_i | o) = \Pi_{x_i,t}^*.$$

За добијање коначног резултата, што су процењене оптималне мапе прелаза и емисија у кораку максимизације, сабирају се вредности претходних вероватносних индикатора. Додатно, код мапе емисија се сабирају само оне

вероватноће које одговарају емитованом симболу. Важе следеће формуле:

$$a_{x_i, x_j} = \sum_{t=1}^{k-1} A_{x_i, x_j, t} = \sum_{t=1}^{k-1} \Pi_{x_i, x_j, t}^{**},$$

$$b_{x_i, y_j} = \sum_{t=1}^k I(y_j = o_t) \cdot B_{x_i, t} = \sum_{t=1}^k I(y_j = o_t) \cdot \Pi_{x_i, t}^*.$$

Као и досад, вероватноће је неопходно нормализовати. Овиме је добро дефинисан корак максимизације, те је комплетиран цео нови *EM* алгоритам.

Поменуто је већ да је Баум-Велчово учење углавном успешније од Витербијевог када је реч о оптималности решења. Оно је, ипак, и веће сложености, пошто захтева већи број пролаза кроз опажање. Наиме, сложеност E корака код оба износи највише $O(n^2k)$ – Витербијев или алгоритам „напред-назад”. Сложеност M корака је, међутим, $O(n^2 + nm + k)$ код Витербијевог (попуњавање мапа уз један пролаз кроз опажање), а $O(n^2k + nmk)$ (попуњавање мапа уз више пролаза кроз опажање) код Баум-Велчовог учења.

Глава 6

Закључак

У раду је изложен појам скривених Марковљевих модела, као и њихов биоинформатички значај. Дата је детаљна мотивација за увођење статистички поткованог аутомата, након чега је појам *HMM* разрађен на примеру непопштене коцкарнице (бацање два новчића). Затим је и примењен на решавање важних биолошких проблема, попут проналажења *CG* острва (места са генима) и напредног бављења генским и протеинским профилима. Поменута је употреба *HMM* за моделовање и препознавање људског понашања, гестова, рукописа и говора, обраду звука и сигнала, одређивање врсте речи у тексту или чак моделовање тока пандемије *COVID-19* у Републици Србији засновано на најосновнијим подацима. Објашњен је значај оваквих модела како код проблема надгледаног, тако и код проблема ненадгледаног машинског учења. Наведене су многе њихове могућности, како основне, тако и напредне.

Уобичајено гледиште је да се *HMM* баве трима питањима, односно решавају три типа проблема – оцењивање, декодирање и учење [32]. Први се односи на одређивање вероватноће опажања, други на одређивање највероватнијег пута при исходу, а трећи на одређивање параметара модела. Додатно, сва три проблема могу се односити на један конкретан или на све скривене путеве, тако да се може рећи да у раду са *HMM* постоји шест главних задатака [25]. У првом случају, решења проблема су, редом, одређивање вероватноће исхода при познатом путу, Витербијев алгоритам, као и надгледано и ненадгледано Витербијево учење поткрепљивањем. У другом, решења су алгоритам „напред”, алгоритам „напред-назад” (меко, апостериорно декодирање) и ненадгледано Баум-Велчово учење. Све наведено и више од тога обрађено је у претходним поглављима, али и примењено на моделованим проблемима.

ГЛАВА 6. Закључак

Скривени Марковљеви модели прешли су дуг пут од првих употреба у рачунарској биологији (нпр. Черчил 1989 [16], Крог и сарадници 1994 [29], Балди и сарадници 1994 [8]) до данашње широке биоинформатичке примене. Значајна напредна примена *HMM* која превазилази оквире лекције јесте моделовање отпорности ХИВ-а на лекове. У уводу је поменуто да се заражени пациенти лече коктелом антивирусних лекова, који је због високе стопе мутација често посебно осмишљен за сваког појединца, како би терапија била успешна. Мутације могу да онеспособе дејство неког лека који је раније имао ефекта. Стога је разумевање отпорности од високог значаја. Нико Беренвинкел и Матијас Дртон су 2006. предложили модел реактивности соја на лекове заснован баш на *HMM*, додуше изразито комплексном [12].

Паралелно са писањем овог текста, направљена је електронска лекција, као суштински најзначајнији допринос рада. Лекција је реализована у виду *Jupyter* свеске, која је заједно са свим осталим материјалима доступна на *GitHub*-у [6]. Концепт је такав да свеска садржи сличан текст као у писаном раду, али успут складишти и *Python* кодове који имплементирају у тексту изложене алгоритме. Имплементирана су сва решења поменута у овом тексту, али и многа друга из литературе [17]. Како се кодови интерпретирају, они су у потпуности интерактивни и могу лако послужити за самосталан студентски рад и детаљније упознавање са имплементацијама. За случај да читаоцу нису доступни *Python* интерпретатор и/или *Jupyter* сервер, направљена је и *HTML* верзија материјала исте садржине, али која, додуше, није интерактивна.

Замисао обрађене лекције будућег електронског уџбеника јесте да допринесе усвајању знања о скривеним Марковљевим моделима и њиховој примени у биоинформатици. За разумевање главних појмова неопходно је само основно предзнање из математике (углавном вероватноће) и биологије (улавном генетици), мада је јасно да за потпуно разумевање близкост тематици – статистичкој, рачунарској, биолошкој – представља предност.

Када је реч о даљем раду, имплементирани алгоритми могли би се сабрати у нов модул језика *Python* и објавити на неком од репозиторијума који похрањују пакете функција, као што је *PyPI*¹. Тако би код електронске лекције био лако доступан свима и могао би се једноставно инсталирати, нпр. помоћу менаџера пакета *pip*², те употребити у сваком пројекту заснованом на *HMM*.

¹The Python Package Index (PyPI). званични сајт: <https://pypi.org/>.

²pip (package installer for Python). званични сајт: <https://pip.pypa.io/en/stable/>.

Библиографија

- [1] A guide for students. Programa de Pós-Graduação em Bioinformática, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, уводна реч једног бразилског програма дипломских студија из биоинформатике доступна на: <http://www.bioinfo.ufpr.br/en/a-guide-for-students.html>.
- [2] Bioinformatika. званични сајт курса Увод у биоинформатику на Математичком факултету: <http://www.bioinformatika.matf.bg.ac.rs/>.
- [3] Global HIV Programme. World Health Organization, доступно на: <https://www.who.int/teams/global-hiv-hepatitis-and-stis-programmes/hiv/strategic-information/hiv-data-and-statistics>.
- [4] Андрей Андреевич Марков. Распространение закона больших чисел на величины, зависящие друг от друга. *Известия физико-математического общества при Казанском университете*, 2(15):135–6, 1906.
- [5] Лазар Васовић. COVID u Srbiji, 05 2021. GitHub, репозиторијум доступан на интернет адреси: <https://github.com/matfija/COVID-u-Srbiji>.
- [6] Лазар Васовић. HMM u bioinformatici, 09 2021. GitHub, репозиторијум доступан на: <https://github.com/matfija/HMM-u-bioinformatici>.
- [7] Rodrigo Andreão, Bernadette Dorizzi, and Jérôme Boudy. ECG Signal Analysis through Hidden Markov Models. *IEEE transactions on bio-medical engineering*, 53:1541–9, 09 2006. чланак доступан на: https://www.researchgate.net/profile/Bernadette-Dorizzi/publication/6872005_ECG_Signal_Analysis_through_Hidden_Markov_Models/links/54aab7730cf25c4c472f4941/ECG-Signal-Analysis-through-Hidden-Markov-Models.pdf.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [8] Pierre Baldi, Yves Chauvin, Tim Hunkapiller, and Marcella McClure. Hidden Markov Models of Biological Primary Sequence Information. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91:1059–63, 03 1994. <https://www.pnas.org/content/pnas/91/3/1059.full.pdf>.
- [9] Alex Bateman, Ewan Birney, Lorenzo Cerruti, Laurence Ettwiller, Sean Eddy, Sam Griffiths-Jones, Kevin Howe, Mhairi Marshall, and Erik Sonnhammer. The Pfam Protein Families Database. *Nucleic acids research*, 30:276–80, 02 2002. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99071/>.
- [10] L. E. Baum and T. Petrie. Statistical Inference for Probabilistic Functions of Finite State Markov Chains. *The Annals of Mathematical Statistics*, 37(6):1554–63, 12 1966. преузимање на: <https://projecteuclid.org/journalArticle/Download?urlId=10.1214%2Faoms%2F1177699147>.
- [11] Leonard E. Baum, Petriem Ted, George Soules, and Norman Weiss. A Maximization Technique Occurring in the Statistical Analysis of Probabilistic Functions of Markov Chains. *Annals of Mathematical Statistics*, 41(1):164–71, 02 1970. чланак доступан на интернет адреси: <https://www.biostat.wisc.edu/~kbroman/teaching/statgen/2004/refs/baum.pdf>.
- [12] Niko Beerenwinkel and Mathias Drton. A mutagenetic tree hidden Markov model for longitudinal clonal HIV sequence data. *Biostatistics*, 8(1):53–71, 03 2006. чланак доступан на интернет адреси: <https://academic.oup.com/biostatistics/article-pdf/8/1/53/697249/kxj033.pdf>.
- [13] M. Bishop and E. Thompson. Maximum Likelihood Alignment of DNA Sequences. *Journal of Molecular Biology*, 190(2):159–65, 07 1986. апстракт доступан на: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3641921/>.
- [14] Chris Burge and Samuel Karlin. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. *Journal of Molecular Biology*, 268(1):78–94, 04 1997. линк: <http://www.bx.psu.edu/old/courses/bx-fall07/genscan.pdf>.
- [15] R. L. Cave and L. P. Neuwirth. Hidden Markov models for English. *J. D. Ferguson, editor, Hidden Markov Models for Speech, IDA-CRD, Princeton, NJ*, 02 1980. чланак доступан на интернет адреси: <http://www.cs.sjsu.edu/~stamp/RUA/CaveNeuwirth/cave-neuwirth.pdf>.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [16] Gary A. Churchill. Stochastic models for heterogeneous DNA sequences. *Bulletin of Mathematical Biology*, 51(1):79–94, 1989. апстракт доступан на интернет адреси: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2706403/>.
- [17] Phillip Compeau and Pavel Pevzner. *Bioinformatics Algorithms: An Active Learning Approach, 2nd Edition, Vol. II*. Active Learning Publishers, LLC, 2015. званични сайт: <https://www.bioinformaticsalgorithms.org/>.
- [18] David DeCaprio, Jade P. Vinson, Matthew D. Pearson, Philip Montgomery, Matthew Doherty, and James E. Galagan. Conrad: Gene prediction using conditional random fields. *Genome Research*, 17(9):1389–98, 09 2007. доступно на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1950907/>.
- [19] Richard Durbin, Sean Eddy, Anders Krogh, and Mitchison Graeme. *Biological Sequence Analysis: Probabilistic Models of Proteins and Nucleic Acids*. Cambridge University Press, 1998. цела књига бесплатно доступна на интернет адреси: http://www.mcb111.org/w06/durbin_book.pdf.
- [20] M.J.F. Gales and Steve Young. The Application of Hidden Markov Models in Speech Recognition. *Foundations and Trends in Signal Processing*, 1:195–304, 01 2007. доступно на: https://mi.eng.cam.ac.uk/~mjfg/mjfg_NOW.pdf.
- [21] J Henderson, S Salzberg, and Fasman K H. Finding Genes in DNA with a Hidden Markov Model. *Journal of Computational Biology*, 4(2):127–41, 04 1997. чланак бесплатно доступан на интернет адреси: <https://drum.lib.umd.edu/bitstream/handle/1903/8004/FindingGenes.pdf>.
- [22] Daniel Huson. Grundlagen der Bioinformatik, 07 2020. SoSe'20, Universität Tübingen, професорске белешке са предавања на курсу посвећеном основама биоинформатике доступне на: <https://software-ab.informatik.uni-tuebingen.de/download/public/GBi-2020-Script.pdf>.
- [23] Jean-Jacques de Jong, Anthony de Ronde, Wilco Keulen, Matthijs Tersmette, and Jaap Goudsmit. Minimal requirements for the human immunodeficiency virus type 1 V3 domain to support the syncytium-inducing phenotype: Analysis by single amino acid substitution. *Journal of virology*, 66:6777–80, 12 1992. чланак бесплатно доступан на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC240176/pdf/jviro100042-0547.pdf>.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [24] Dan Jurafsky and James H. Martin. *Speech and Language Processing*. Prentice Hall, 2020. део књиге бесплатно доступан на интернет адреси: <https://web.stanford.edu/~jurafsky/slp3/8.pdf>.
- [25] Manolis Kellis. 7.5: Algorithmic Settings for HMMs, 03 2021. Biology LibreTexts, ауторски текст професора доступан на: <https://bio.libretexts.org/@go/page/40957>.
- [26] Manolis Kellis. 8.3: Encoding Memory in a HMM- Detection of CpG islands, 01 2021. Biology LibreTexts, ауторски текст професора доступан на: <https://bio.libretexts.org/@go/page/40962>.
- [27] Ghazaleh Khodabandou, Charlotte Hug, Rébecca Deneckère, and Camille Salinesi. Supervised vs. Unsupervised Learning for Intentional Process Model Discovery. 06 2014. Business Process Modeling, Development, and Support (BPMDS), Thessalonique, Greece, чланак доступан на: <https://hal-paris1.archives-ouvertes.fr/hal-00994165/document>.
- [28] Keith Knapp and Yi-Ping Phoebe Chen. An evaluation of contemporary hidden Markov model genefinders with a predicted exon taxonomy. *Nucleic Acids Research*, 35(1):317–24, 01 2007. чланак доступан на интернет адреси: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1802560/>.
- [29] Anders Krogh, Michael Brown, Saira Mian, Kimmen Sjölander, and David Haussler. Hidden Markov models in computational biology. Applications to protein modeling. *Journal of Molecular Biology*, 235(5):1501–31, 1994. апстракт доступан на: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8107089/>.
- [30] P. A. Levene. ON THE BIOCHEMISTRY OF NUCLEIC ACIDS. *Journal of the American Chemical Society*, 32(2):231–240, 1910. чланак делимично доступан на: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ja01920a010>.
- [31] Nam-Phuong Nguyen, Michael Nute, Siavash Mirarab, and Tandy Warnow. HIPPI: highly accurate protein family classification with ensembles of HMMs. *BMC Genomics*, 17:89–100, 11 2016. доступно на: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12864-016-3097-0.pdf>.
- [32] Lawrence Rabiner. A Tutorial on Hidden Markov Models and Selected Applications. *Proceedings of the IEEE*, 77(2):257–86, 02 1989. чланак досту-

БИБЛИОГРАФИЈА

- пан на интернет адреси: <https://web.ece.ucs.edu/Faculty/Rabiner/ece259/Reprints/tutorial%20on%20hmm%20and%20applications.pdf>.
- [33] Keith Souter. The Pocket Guide to Dice & Dice Games, 01 2013. део књиге бесплатно доступан на интернет адреси: <https://books.google.rs/books?id=1bbNDwAAQBAJ&pg=PT175>.
 - [34] Volker Sperschneider. *Bioinformatics: Problem Solving Paradigms*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008. део књиге бесплатно доступан на интернет адреси: <https://books.google.rs/books?id=C6NLpoHF2YwC&pg=PA268>.
 - [35] Mark Stamp, Mamoun Alazab, and Andrii Shalaginov. *Malware Analysis Using Artificial Intelligence and Deep Learning*. Springer International Publishing, 2021. део књиге бесплатно доступан на интернет адреси: <https://books.google.rs/books?id=QT4QEAAAQBAJ&pg=PA295>.
 - [36] Fukui Tian, Qingyi Zhou, and Chuanchuan Yang. Gaussian mixture model-hidden Markov model based nonlinear equalizer for optical fiber transmission. *Optics Express*, 28(7):9728–37, 03 2020. чланак доступан на: <https://www.osapublishing.org/oe/fulltext.cfm?uri=oe-28-7-9728&id=429345>.
 - [37] Edmondo Trentin and Marco Gori. Robust combination of neural networks and hidden Markov models for speech recognition. *IEEE Transactions on Neural Networks*, 14(6):1519–31, 11 2003. апстракт доступан на интернет адреси: <https://ieeexplore.ieee.org/document/1257414>.
 - [38] Andrew James Viterbi. Error bounds for convolutional codes and an asymptotically optimum decoding algorithm. *IEEE Transactions on Information Theory*, 13(2):260–9, 04 1967. доступно на: <https://www.acs.ohio-state.edu/goel.1//STAT825/PAPERS/viterbiErrBnds.pdf>.
 - [39] James D. Watson and Francis H. Crick. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356):737–8, 04 1953. чланак бесплатно доступан на: <http://dosequis.colorado.edu/Courses/MethodsLogic/papers/WatsonCrick1953.pdf>.
 - [40] Lloyd R. Welch. The Shannon Lecture – Hidden Markov Models and the Baum-Welch Algorithm. *IEEE Information Theory Society Newsletter*, 53(4):9–13, 12 2003. чланак доступан на интернет адреси: http://yanfenglu.net/documents/Baum-Welch_Algorithm.pdf.

- [41] Byung-Jun Yoon. Hidden Markov Models and their Applications in Biological Sequence Analysis. *Current Genomics*, 10(6):402–15, 09 2009. чланак доступан на: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2766791/>.