

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:

..., ..., ..., ...

..., ...

..., ..., ..., ...

..., ...

Датум одбране: септембар 2021.

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

Резиме: ...

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	8
2.4 Додатни проблеми	11
3 Моделовање	13
3.1 Дефиниција модела	13
3.2 Могућности модела	16
3.3 Надградња дефиниције	19
3.4 Витербијев алгоритам	21
3.5 Алгоритам „напред“	27
4 Биолошки значај	31
4.1 Гени – два стања	31
4.2 Гени – више стања	36
4.3 Профилни модели	41
4.4 Рад са профилима	50
5 Учење модела	62
5.1 Витербијево учење	62
5.2 Баум-Велчово учење	65
6 Закључак	66
Библиографија	68

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.



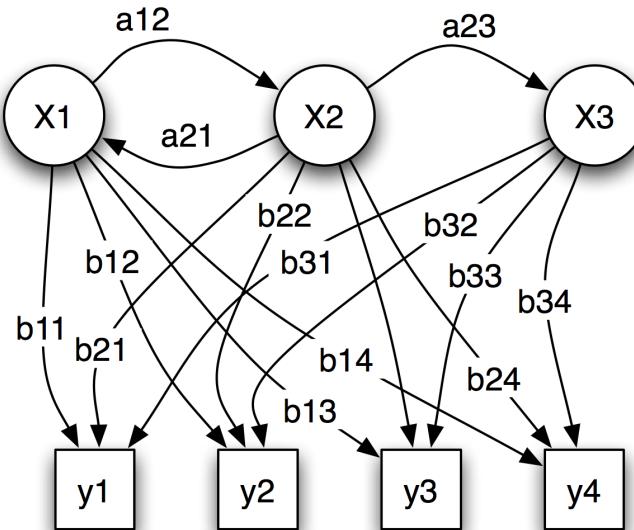
Слика 1.1: Венов дијаграм интердисциплинарности[10]

Овако представљена, биоинформатика је заправо спој статистике, рачунарства и биологије – сва истовремено – по чему надилази појединачне

ГЛАВА 1. Увог

спојеве: биостатистику, науку о подацима и рачунарску биологију. Конкретно, статистички (математички) апарат 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, 30, 35].

Скривени Марковљев модел (у наставку углавном скраћено *HMM*енгл. *Hidden Markov Model*), укратко, представља статистички 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[57].



Слика 1.2: Једноставан пример скривеног Марковљевог модела[58]

Циљ овог рада је спајање претходно уведених појмова – биоинформатике

ГЛАВА 1. Увог

и скривених Марковљевих модела. Замисао је, dakле, 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*.

Излагање је засновано на књизи *Bioinformatics Algorithms: An Active Learning Approach*[32] аутора Филипа Компоа (*Phillip Compeau*) и Павела Певзнера (*Pavel Pevzner*), која се користи као уџбеник на више од сто светских факултета[2], међу којима је и Математички факултет Универзитета у Београду[3]. 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[12].

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”[4].

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 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 незгодну 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 паценту 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 вишеструког поравнања такозване *V3* петље, издвојеног региона у оквиру *gp120*, и формулисао правило 11/25[41]. 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[32] генериран алатом *WebLogo*[8]

За крај и поенту уводног излагања 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 едит растојања, али уз два главна проблема: овакви алгоритми динамичког програмирања су често велике сложености и са мање слободе код скорова,

ГЛАВА 2. *Мотивација*

а притом не пресликају најбоље суштину биолошког проблема класификације фенотипа у алгоритамски проблем (недостају кораци након поравнања). Постоји, дакле, потреба за новом формулатијом 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, ДНК добрим делом 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[49], 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[60]. 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 упропшћени 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 узимају сасвим различите уделе. Конкретно, иако би се очекивало да, под претпоставком равномерне расподеле, сваки од њих узима 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 очекиваног, а посебно у регионима у којима је удео CG изразито мали. Разлог томе лежи у метилијацији, најчешћој измени која природно настаје унутар

ГЛАВА 2. Мотивација

ДНК. Поједини нуклеотиди, наиме, могу бити нестабилни, па се на њих лако накачи метил група (CH_3). Међу најнеустабилнијим управо је цитозин иза ког следи гуанин, дакле *C* из *CG*. Метиловани цитозин даље се често спонтано деаминује 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 потиснута. Иако је сам процес метилације важан у току ћелијске диференцијације – доприноси неповратној специјализацији матичних ћелија – она углавном није пожељна 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 *CG* знатно чешће. Овакви делови ДНК називају се *CG* острвима или *CpG* местима. Разлика у уделу динуклеотида у некодирајућим и регионима богатим генима дата је кроз табелу 2.1, која је дата директно у наставку.

Удео динуклеотида у једном ланцу људског *X* хромозома

Табела 2.1: – лево у регионима *CG* острва, а десно ван њих[32];
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 јапан-

ГЛАВА 2. Мотивација

ских путујућих коцкара, који су били распрострањени 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”[36]. 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, у жељи да заради (он узима проценат зараде победника), 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 често довољно 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 утичу на наредне – вероватноћа да n бацања произведе низ исхода $x = x_1 \dots x_n$,

ГЛАВА 2. Мотивација

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 бацао праведни новчић, док је у случају $P\{x|F\} < P\{x|B\}$ бацао 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 ненегативних вероватноћа. Ово значи да је већа вероватноћа да је крупије бацао 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 стране. Лева страна је мања, па је однос позитиван.

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

ГЛАВА 2. *Мотивација*

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 када вероватније коришћен.

Слично као код проблема проналажења *CG* острва, потребно је на неки начин различите секвенце новчића упоредити и одредити која је 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 настао 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 назименично баца два претходно описана новчића, а добијени низ исхода је $x = HHHHHTTHHHTTTT$, онда прозор $x_1 \dots x_{10} = HHHHHTTHH$ има негативан логаритамски однос, док је однос преклапајућег прозора $x_6 \dots x_{15} = TTHHHTTTTT$ позитиван. Није јасно како одлучити који је новчић бацан у пресеку $x_6 \dots x_{10} = TTHH$, 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 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.

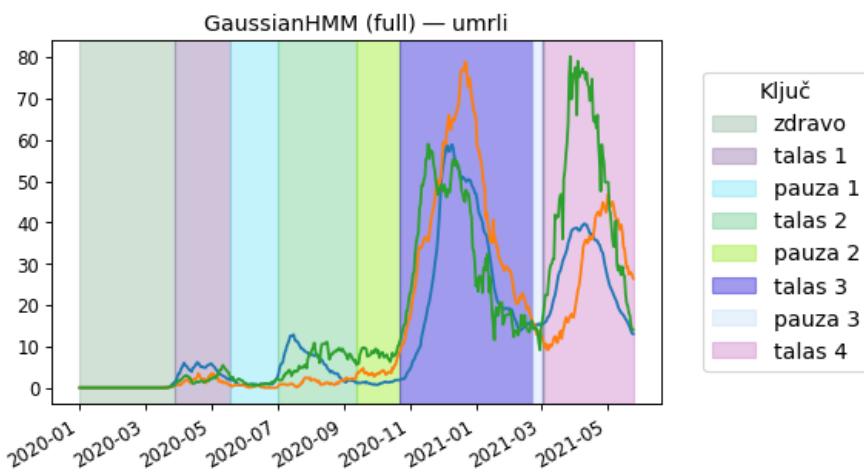
2.4 Додатни проблеми

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 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 мотивациони пример са бацањем новчића.

ГЛАВА 2. Мошивација

Приметно је да је секвенцијалност главна особина података са којима се ради при решавању претходно описаних проблема. Први проблем стога се за-право лако уопштава на проблем класификације било каквих секвенцијалних података, под условом да се сличност мери на основу измена које одговарају мутацијама које настају у геному, што су супституције, инсерције и делеције. Други проблем му је сличан, с тим што класификује (заправо групише – кла-стерује) поднизове једне секвенце. Кад 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[45].

Овакво решење могло би се аналогно користити за додељивање новооткри-вених протеина некој постојећој фамилији[51] (класификација), моделовање и препознавање људског понашања, гестова, рукописа и говора[37] (класи-фикација), обраду звука и сигнала[22] (класификација и кластеровање) или одређивање врсте речи у тексту[50]. Домен примене је чак и моделовање тока пандемије *COVID-19* засновано на најосновнијим подацима, чији се при-мер резултата у случају Републике Србије може видети на слици 2.2, док се детаљније информације о моделима могу добити увидом у цитирани рад.



Слика 2.2: Моделовање епидемије *COVID-19* у Србији[11]

Досад је више пута наговештено да су добар избор скривени Марковљеви модели. Ваља, међутим, напоменути да се многи наведени проблеми још ефектније решавају својеврсним проширењима *HMM*-а, попут условних слу-чајних поља[52], или комбинацијом са вештачким неуронским мрежама[31].

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. Структура му за почетак није важна, али његово деловање јесте. Аутомат је секвенцијалне природе, те оперише кроз низ корака. У сваком кораку је 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 апстражовати 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. баш равномерно, са једнаким вероватноћама $1/2$), а надаље се у сваком кораку стање мења са неком малом вероватноћом (нпр. $1/10$), док се

ГЛАВА 3. Моделовање

са знатно већом преосталом (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 статистички 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 (тако заправо $x = \{x_1, \dots, x_n\}$), $\pi = \{\pi_1, \dots, \pi_n\}$ и $a = \{a_{ij}\}_{1 \leq i, j \leq n}$) и број могућих опсервација m (тако заправо $y = \{y_1, \dots, y_m\}$ и $b = \{b_{ij}\}_{1 \leq i \leq n, 1 \leq j \leq m}$) као помоћни елементи сваког HMM .

Како су сви скупови коначни, прецизније се говори о дискретним (мултиномијалним) HMM , мада је иначе могуће моделовати разне непрекидне расподеле[42]. Додатно, HMM се у литератури често дефинише још простије, као уређена тројка $\{a, b, \pi\}$, односно $\{A, B, \pi\}$ ако се користе велика слова. Стварно, скупови x и y просто се мењају 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:

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

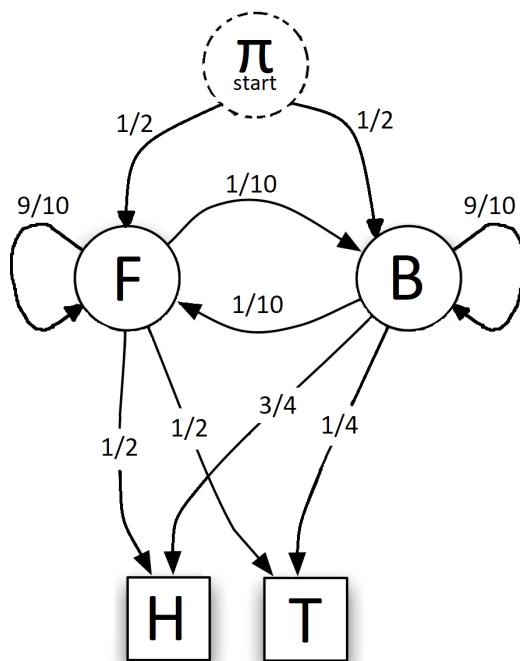
Постоје, међутим, изузети који су детаљније обрађени у наставку, када се говори о важним надградњама појма скривених Марковљевих модела.

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 приказана кружним, а емисије квадратним чворовима. Вероватноће преласка

ГЛАВА 3. Моделовање

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 мотивационог проблема бацања коцкице у непоштеној коцкарници. За конкретни случај, изложен на почетку поднасловом, 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 саја $x = \{F, B\}$ – 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[25]. *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[9]. Прва практична примена *HMM* била је препознавање говора, док је биолошка примена почела 1986, Бишоповим и Томпсоновим поравнањем ДНК[27].

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 $o = THTHHHTHTTH$, 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 излагање *HMM* за бацање новчића у непоштеној коцкарници, дати су примери значења чланова петорке, који донекле наговештавају могућности скривених Марковљевих модела. Прво, напоменуто је да полазне вероватноће заправо представљају вероватноћу да се у првом кораку ушло у неко стање. Другим речима, то су заправо вероватноће $P\{p\}$ свих могућих 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 формулама 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 и уведен појам *HMM*.

Проблем 0: Непопштена коцкарница

На основу низа исхода бацања новчића, одредити када кручије у непопштеној коцкарници кориснико 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 је o_i резултат бацања p_i .

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

Проблем 1: Декодирање приказа

*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, dakле $\text{argmax}_p P\{p, o\}$ за улазно o .

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 јућа и ојаксања 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 пута[13]

Израчунати вероватноћу скривеног јућа 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 $P\{p_1 p_2 \dots p_{k-1} p_k\} = P\{p_1\}P\{p_1 \mapsto p_2\} \dots P\{p_{k-1} \mapsto p_k\}$. Објашњено је већ и да је $P\{x_i \mapsto x_j\} = a_{ij}$, па се свеукупно вероватноћа пута може израчунати 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.

Проблем 4: Вероватноћа исхода на путу[15]

Израчунати вероватноћу јућа о на јућу p 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 $P\{o|p\}$.

Други елемент $P\{o|p\}$, дакле, представља вероватноћу да HMM емитише ниску o при проласку кроз низ стања p . Већ је показано да за једно-

члане путеве важи $P\{y_j|x_i\} = b_{ij}$. Код вишечланих нема разлике, пошто је пут фиксиран и само се прате опсервације. Стога је $P\{o_1...o_k|p_1...p_k\} = P\{o_1|p_1\}...P\{o_k|p_k\}$. 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 $p = p_1...p_k$ постаје $p = p_0p_1...p_k$, 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 $\{a, b, \pi\}$.

Оваква допуна свој пун потенцијал показује у напреднијим 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:

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

ГЛАВА 3. Моделовање

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 извучених из непрекидних расподела (досад су разматране дискретне) и тада се мапа вероватноћа b_{ij} посматра као мапа расподела b_i , која склadiшти 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 логаритамске 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):

$$\begin{aligned} P_{\log}\{p\} &= \log P\{p\} = \log \pi_{p_1} + \sum_{i=2}^k \log a_{p_{i-1}, p_i} = \sum_{i=1}^k \log a_{p_{i-1}, p_i}, \\ P_{\log}\{o|p\} &= \log P\{o|p\} = \sum_{i=1}^k \log b_{p_i, o_i}, \\ P_{\log}\{p, o\} &= \log P\{p, o\} = \sum_{i=1}^k (\log a_{p_{i-1}, p_i} + \log b_{p_i, o_i}). \end{aligned}$$

Заправо је најефикасније директно радити са логаритамским 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:

$$\begin{aligned} P_{\log}\{p\} &= \pi_{\log, p_1} + \sum_{i=2}^k a_{\log, p_{i-1}, p_i} = \sum_{i=1}^k a_{\log, p_{i-1}, p_i}, \\ P_{\log}\{o|p\} &= \sum_{i=1}^k b_{\log, p_i, o_i}, P_{\log}\{p, o\} = \sum_{i=1}^k (a_{\log, p_{i-1}, p_i} + b_{\log, p_i, o_i}). \end{aligned}$$

Надграђени *HMM* сада се може свести на једноставну уређену двојку:

- мапа логаритамских вероватоћа прелаза a_{\log, x_i, x_j} ,
- мапа логаритамских 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 $\{a, b, \pi\}$, 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 логаритамских полазних вероватноћа π_{\log} ,
- оригиналне вредности у мапама a, b, π .

Надграђени HMM моделује непоштену коцкарницу на следећи начин:

$$\bullet \text{ прелази } a_{\log} = F \begin{pmatrix} F & B \\ \pi & \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \log \frac{1}{2} & \log \frac{1}{2} \\ \log \frac{9}{10} & \log \frac{1}{10} \\ B & \log \frac{1}{10} & \log \frac{9}{10} \end{pmatrix} - \text{нпр. } a_{\log, F, B} = P_{\log}\{F \mapsto B\},$$

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

3.4 Витербијев алгоритам

Одређивањем формулe $P\{p, o\}$ за путеве произвољне дужине, могуће је приступити проблему максимизације. Како је већ предложено, наивна идеја иссрпне претраге састоји се од генерисања 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

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.

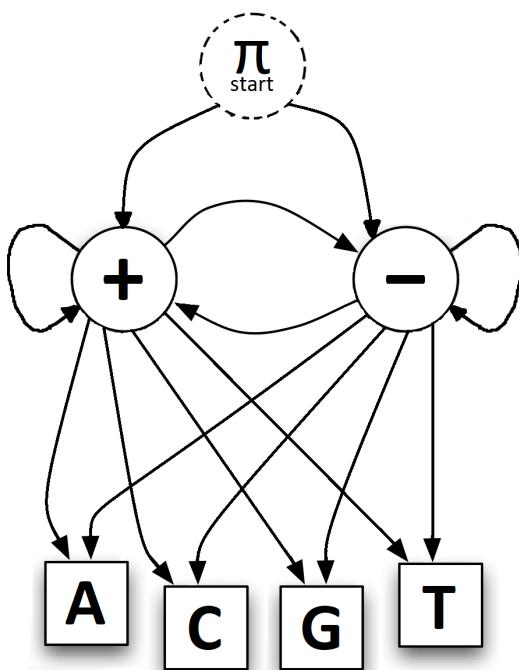
Сада је циљ доћи до прецизног, једнозначног и статистички поткованог решења употребом одговарајућег скривеног Марковљевог модела. Замисао је у суштини једноставна – улазни низ нуклеотида посматра се као секвенца опажања коју треба декодирати. Другим речима, за сваки карактер ниске са улаза потребно је 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 мотивациони проблем непоштене коцкарнице. Наиме, такође су присутна два стања, мада опсервација има нешто више. Свеукупно, проблем се може апстрактовати 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:

- | | | | |
|---|---|---|---|
| A | C | G | T |
|---|---|---|---|
- 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 могућностима 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 ништа бољи. Параметри су, иначе, преузети са примера употребе библиотеке *pomegranate*[55], па је добар тренутак за кратку дигресију о њој. Ради се о модулу програмског језика *Python* који омогућује рад са многим пробабилистичким моделима, што поред скривених Марковљевих модела укључује и Марковљеве ланце, Бајесове и Марковљеве мреже (случајна поља), графове фактора и уопштене мешовите моделе.

Што се тиче рада са *HMM*, од досад обрађених проблема решени су само декодирање (Витербијев алгоритам) и вероватноћа опажања (алгоритам „напред”), те је модул с те стране минималистички. Ипак, добра страна је што су имплементирана сва изнесена проширења дефиниције (логаритамске вероватноће, непрекидне расподеле, експлицитно почетно и завршно стање итд.), а омогућено је и нешто прилично оригинално – итеративно моделовање. Наиме, модел се у *pomegranate* не прави прослеђивањем готових низова, матрица или мапа, већ део по део, тако што се прво направе жељене расподеле емисија, затим стања са тим расподелама, затим прелази између стања, након чега се финализује топологија модела. Имплементирано је и учење модела, о чему ће у раду бити касније речи. У коду електронског уџбеника решена је потрага за генима и помоћу овог модула, а резултати су, наравно, једнаки.

Још један познати модул језика *Python* за рад са *HMM* јесте *hmmlearn*[48]. Имплементира дискретне (мултиномијалне), Гаусове (расподеле емисија су нормалне) и мешовите (емисије потичу из мешавине нормалних расподела)

ГЛАВА 4. Биолошки значај

скривене Марковљеве моделе. Попут претходне, и ова библиотека имплементира само Витербијев и алгоритам „напред”, као решења најважнијих проблема код *HMM*. Такође подржава учење параметара модела. С друге стране, ради искључиво са матрицама параметара, па тако мултиномијални модел сасвим одговара основној дефиницији *HMM*, без икаквих надградњи. Чак су стања и емисије у потпуности апстраховани индексима. Стога је једноставна за рад и брзо добијање резултата. И она је у коду електронског уџбеника примењена у потрази за генима, још једном са истим резултатима.

Није лош тренутак да се помене досад занемарена чињеница да су *HMM* генеративни модели. Не само што служе за опис појава које моделују, већ могу у потпуности да их опонашају. Оваква могућност је важна карактеристика сваког модела који је има. Већ је разматрано како се могу добити скривени путеви, опажања или комбинација који максимизују неку вероватноћу. Сада се испоставља да је још једноставније могуће добити произвољан скривени пут и опсервацију на њему. Скривени пут жељене дужине генерише се на основу почетних вероватноћа и мале преласка, а исход на путу помоћу мале емисија. Претходни модел за откривање гена тако се може искористити за генерисање вештачке ДНК секвенце, која задовољава тај статистички опис ДНК. Она, наиме, у појединим деловима садржи *CG* острва и тиме се чини природнијом од случајно генерисане, што је додатна корист од *HMM*.

Што се тиче самог модела, остаје проблем што су досадашња оба покушаја била неуспела. Трећа идеја могло 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. Ово није необично и иде уз чињеницу да ова 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 ово 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.

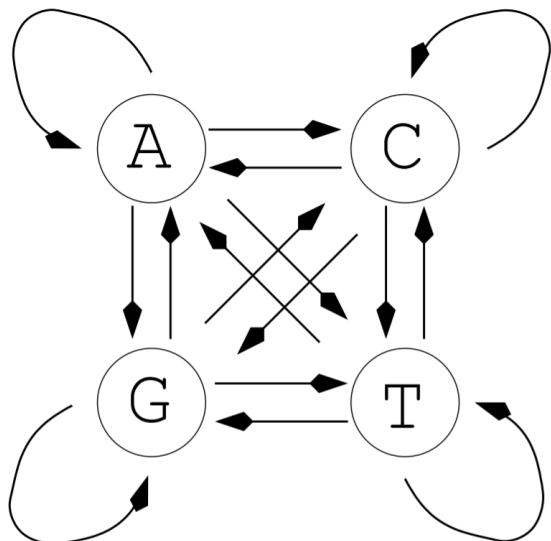
Може се дорадити и мапа прелаза, док се мапа емисија узима према табели 2.1, која управо непосредно табелира вероватноће динуклеотида. Овај при-

ступ даје засад најбоље резултате, који се могу видети у коду лекције.

4.2 Гени – више стања

Како је већ напоменуто, сви досадашњи модели су по структури подсећали на непоштени 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.

Први приступ је врло популаран и основни је пример на многим универзитетским курсевима који обрађују скривене Марковљеве моделе[39, 40, 44, 56]. Разматран је ранијих година и на вежбама из Увода у биоинформатику, у оквиру којег је овај рад настао. Полазна идеја је 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[40]

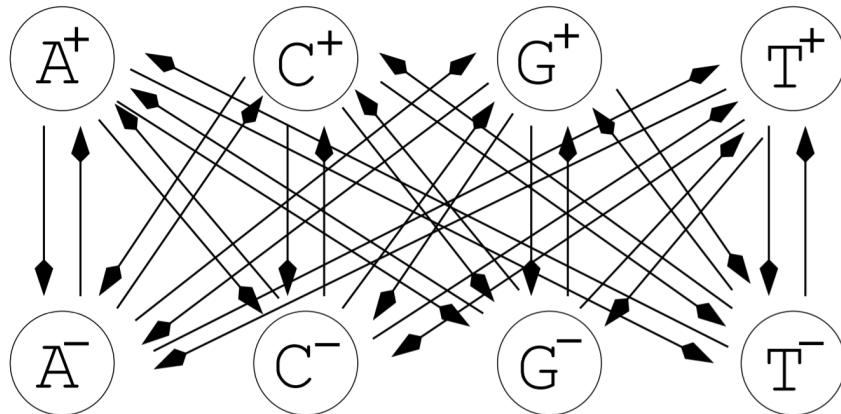
Одговарајуће матрице прелаза могу се одредити емпиријским путем, дакле обрадом секвенци за које је познато јесу ли *CG* острва или не. Уобичајено се узимају вредности из табеле 4.1, које су унапред припремљене (израчунате).

Табела 4.1: Вероватноћа прелаза између нуклеотида једне секвенце – лево у регионима *CG* острва, а десно ван њих[56]

	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.

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.

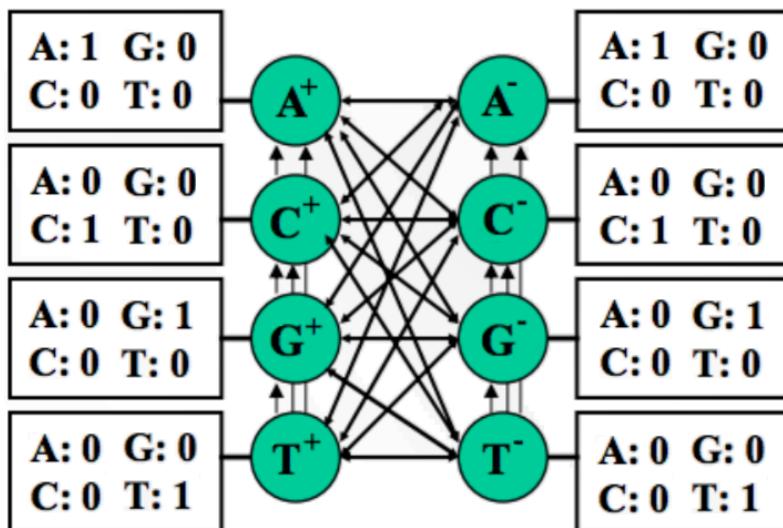


Слика 4.3: Спојени ланци за моделовање *CG* острва[40]

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

скривено, јер опажањем секвенце није познато у ком је модел стању, као у не-поштеној 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 образац пројектовања (узорак, шаблон) у раду са MC и HMM . Свеукупна последица је да је мапа емисија врло једноставна (такрећи 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[44]

Што се тиче почетних вероватноћа, могу се узети емпиријске вредности засноване на узорку или пак равномерне могућности $1/8$. Кад се све сабере:

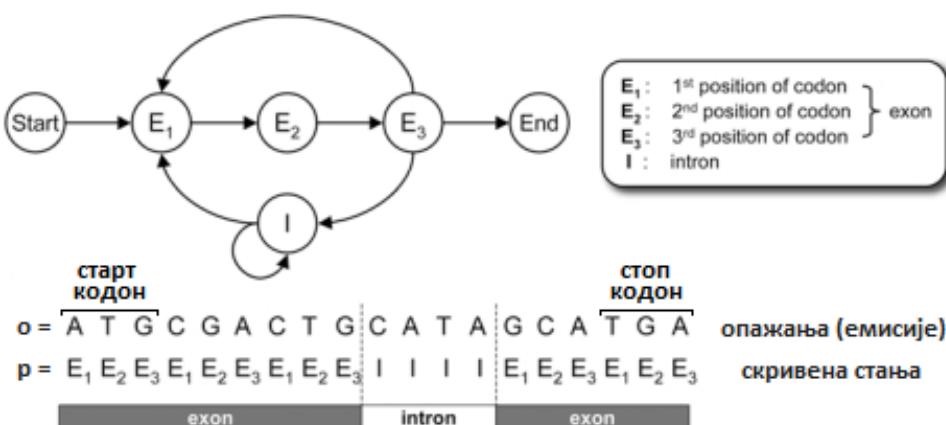
- опсервације $y = \{A, C, G, T\}$ – азбука ДНК нуклеотида,
- скривена стања $x = y \times \{+, -\}$ – Декартов производ симбола,
- полазне вероватноће $\pi = \frac{1}{8}$ или емпиријске, према узорку,
- прелази a – припремљене вредности према табели 4.2 или 4.3,
- емисије $b = 1$ ако стање одговара,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

ГЛАВА 4. Биолошки значај

И овакав модел даје врло добре резултате. Други приступ потрази за генима који укључује већи број стања и није заснован на проналажењу *CG* острва. Алтернативна идеја заправо 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, који би могао да покрене преписивање (транскрипцију) гена, још би боље било када би се могло тачно одредити који нуклеотиди представљају ген, а који не. Познато је да се ДНК може поделити на више поднизова који имају двојаку природу – или су интрони или егзони[46, 62]. Интрони су интрагенски региони, па тако представљају некодирајуће делове наследног 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.

Последица је да се ДНК може моделовати и аутоматом са слике 4.5. На слици су представљени пример, стања и прелази, са већим бројем забрањених.



Слика 4.5: Структура модела еукариотске ДНК[61]

Ово је, међутим, врло упрошћен 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

ГЛАВА 4. Биолошки значај

дужином кодирајући, без инtronских прекида[38, 40]. Стога је очекивано да успешан модел ипак мора имати већи број стања, што и јесте случај.

Један од успешних модела за тачно предвиђање гена који кодирају протеине јесте *GENSCAN*, алат који су 1997. године осмислили Берџ и Карлин[7, 28]. Модел је карактеристичан по томе што предвиђа гене на оба ланца ДНК истовремено, па тако за већину елемената секвенце има дуплирана стања. 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, није лоше 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. Неки општи закључак могао би бити да се боље показују модели са више стања, који конкретније хватају зависности. Штавише, није лоше напоменути да овај проблем спада у оне поменуте у мотивационом уводу, који се ефикасније могу решити помоћу многобројних надградњи *HMM*. Једна од општијих успешних дорада јесу условна случајна поља, која умањују број погрешних предвиђања[33, 34].

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

ГЛАВА 4. Биолошки значај

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 породицама, а затим протеин додели оној са највећим скором. Наивни приступ оцењивању подразумева поређење улазног полипептида са сваким чланом породице 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 мотивационом уводу. То резултује нестварно 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, како је представљено у другом (*Chapter 2: Which DNA Patterns Play the Role of Molecular Clocks? – Randomized Algorithms*) и петом (*Chapter 5: How Do We Compare DNA Sequences? – Dynamic Programming*) поглављу проучаваног уџбеника.

Подсећања ради, вишеструко поравнање је матрица карактера (низ ниски), чији редови представљају ниске које се поравнавају, 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 породице 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 t , веома личи на малу

ГЛАВА 4. Биолошки значај

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 профиле. 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.

	1	2	3	4	5	6	7	8
ВИШЕСТРУКО ПОРАВНАЊЕ	A A A A A	C F — C D	D D — A D	E A E E E	F — F F F	A C — — D — — — A AA	A C F A A	D C F — D
ПРЕЧИШЋЕНО ПОРАВНАЊЕ	A A A A A	C F — C D	D D — A D	E A E E E	F — F F F	A C F A A	D C D — D	F F C — F
ПРОФИЛ	A C D E F	1 0 1/4 0 0	0 2/4 1/4 0 1/4	1/4 0 3/4 0 0	1/5 0 0 4/5 0	0 0 0 0 1	3/5 1/5 0 0 1/5	0 1/4 3/4 0 0
ЛАНАЦ	M_1	M_2	M_3	M_4	M_5	M_6	M_7	M_8

Слика 4.6: Мотивациони пример *HMM* профила[32]

Занимљиво је напоменути да се чини да је ово поглавље у књизи написано ужурбано, па су се провукле чак три материјалне грешке. Прва се налази на уџбеничкој верзији претходне слике, где је расподела у трећој колони $\{0, 0, 3/4, 0, 0\}$. Недостаје, дакле, $1/4$ као вероватноћа приказа A , која је на овдашњој слици додата и наглашена црвеном бојом. Грешка се налази и на

ГЛАВА 4. Биолошки значај

Певзнеровој презентацији, а није познато да ли је исправљена у најновијем издању. О осталим пропустима биће речи у наставку, када се стигне до њих.

Што се тиче малопре приказаног ланчаног *HMM*-а, треба напоменути да му се стања 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 $M_1 M_2 \dots M_{n-1} M_n$.

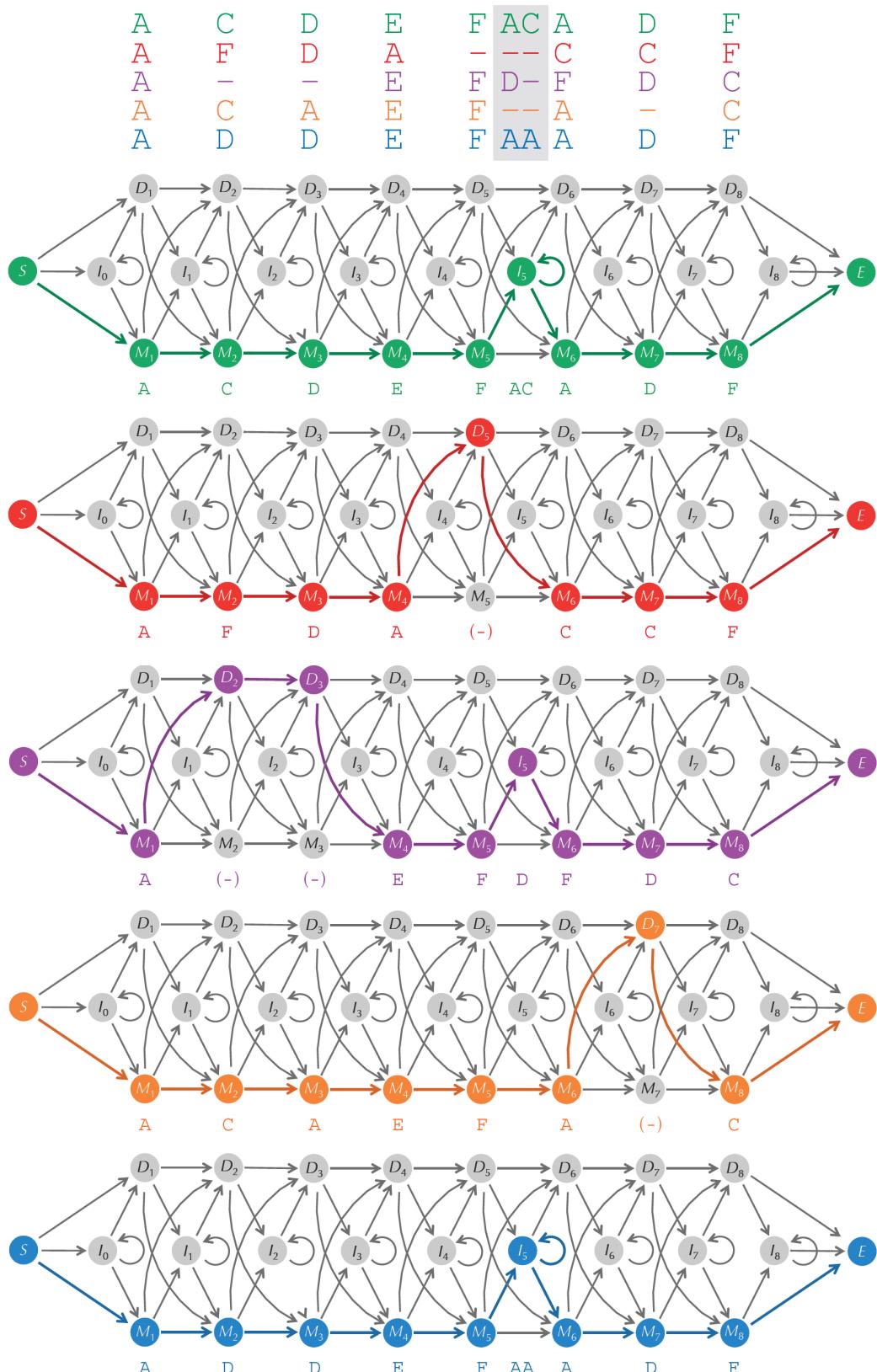
Остаје још питање употребне вредности оваквог модела, односно оваквих модела, јер би постојао по један *HMM* за сваку породицу. Сада би се скор могао добити као вероватноћа емитовања ниске (новог полипептида) o у осмишљеном моделу. И овога пута, протеин би био додељен оној породици са највећим $P\{o\}$. 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. Примера ради, вероватноћа да *HMM* са слике 4.6 емитује *ADDAFFDF* износи (слика 4.7):

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

	A	1	0	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{5}$	0	$\frac{3}{5}$	0	0
ПРОФИЛ	C	0	$\frac{2}{4}$	0	0	0	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{2}{5}$
	D	0	$\frac{1}{4}$	$\frac{3}{4}$	0	0	0	$\frac{3}{4}$	0
	E	0	0	0	$\frac{4}{5}$	0	0	0	0
	F	0	$\frac{1}{4}$	0	0	1	$\frac{1}{5}$	0	$\frac{3}{5}$
ОПАЖАЊЕ		A	D	D	A	F	F	D	F

Слика 4.7: Вероватноћа опсервације као скор фамилије[32]

Свеукупно, овакав модел није лош утолико што добро осликова сличност протеина са породицом – што је улазни полипептид сличнији фамилији, то је његов скор (вероватноћа) већи. Такође, различито оцењује сваку појединачну колону, што је циљ постављен у мотивационом уводу. Ипак, он због дегенерираности баш и није прави *HMM*. Штавише, није ништа бољи од саме профилне матрице. Иако све лепо ради за опсервације (полипептиде) дужине $k = n$,



Слика 4.13: Одређивање параметара профилног HMM[32]

ГЛАВА 4. Биолошки значај

ноћа у петој колони поравнања (прелази са I_5 , D_5 и M_5) погрешна. Уместо овдашњих исправних $\{\{.75, .25, 0\}, \{0, 1, 0\}, \{.4, .6, 0\}\}$, на презентацији су вредности у петом квадрату погрешних $\{\{.25, .75, 0\}, \{.33, .67, 0\}, \{0, 1, 0\}\}$. Да ствар буде гора, пермутоване су вредности и у другом и трећем квадрату.

Било како било, треба се вратити на проблем великог удела нула у емпиријски одређеним мапама преласка и емисија. Поменуто је већ да је главни проблем који то изазива лоше оцењивање многих секвенци и путева. Конкретан пример дат је касније. 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.

Наравно, приликом додавања псеудовредности не треба заборавити на нормализацију, како би збир вероватноћа стварно 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, не треба заборавити да се псеудовредности додају искључиво дозвољеним прелазима, док недозвољени остају строго нулте вероватноће. Одређивање овако дорађеног профилног модела $HMM(P, \theta, \sigma)$ формално се представља кроз проблем 13.

Проблем 13: Одређивање дорађеног профилног модела[17]

Направиши профилни HMM на основу вишеструког поравнања.

Улаз: поравнање P , граница θ , псеудовредност σ .

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

Овиме је појам профилног скривеног Марковљевог модела комплетиран и чини се да је коначно могуће бацити се у рад са њим. 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 породицама, а затим га доделити оној са највећим скором или макар скором који прелази постављену границу. На конкретном примеру предвиђања фенотипа ХИВ-а из мотивационог увода, могла би постојати два

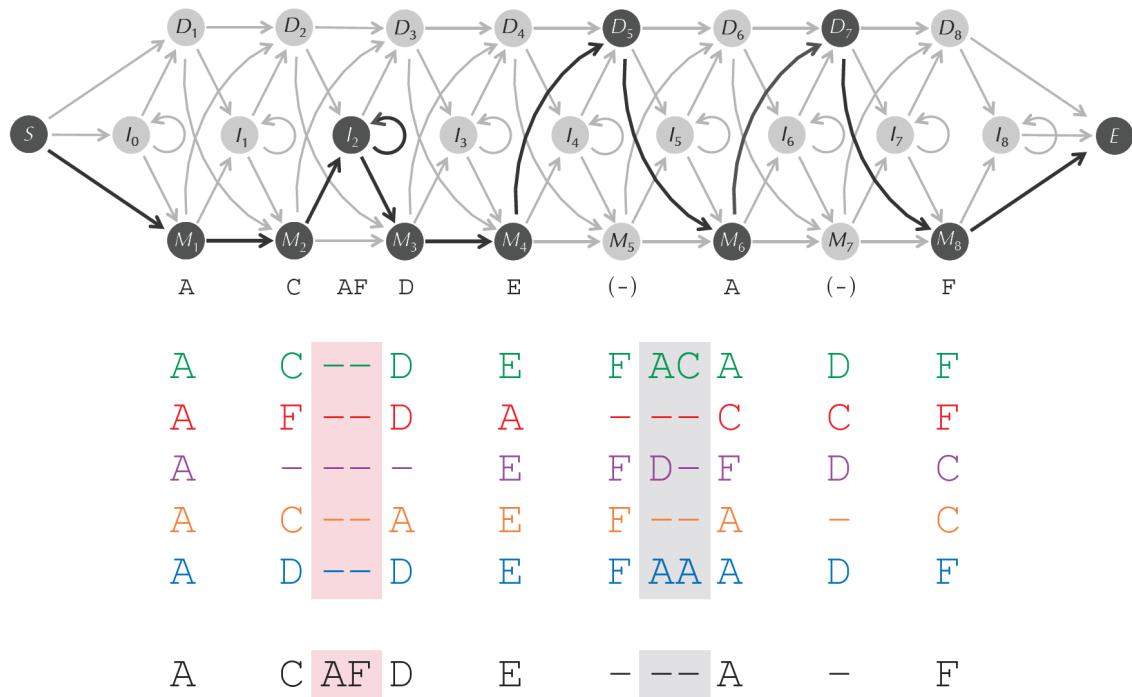
ГЛАВА 4. Биолошки значај

HMM профил – 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 профиле, а одговор на питање добио би се одабиром профиле са већом вероватноћом.

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

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*[5], управо заснован на припремљеним скривеним Марковљевим моделима.

Што се тиче другог циља, 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[32]

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

ГЛАВА 4. Биолошки значај

да је овај пут иначе немогућ (нулте вероватноће) без употребе псеудовредности, јер је нпр. вероватноћа прелаза $M_2 \mapsto I_2$ 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 поравнива 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, односно другој колони поравнања. Следећа два симбола емитована су из стања инсекције 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 празнине „–“. 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. Такође, може се посебно пазити да ли се прелази преко пречишћеног дела (сиво сенчење), мада то и није толико важно. Ошта правила поравнивања сумирају се следећим списком смерница за тумачење стања оптималног скривеног пута:

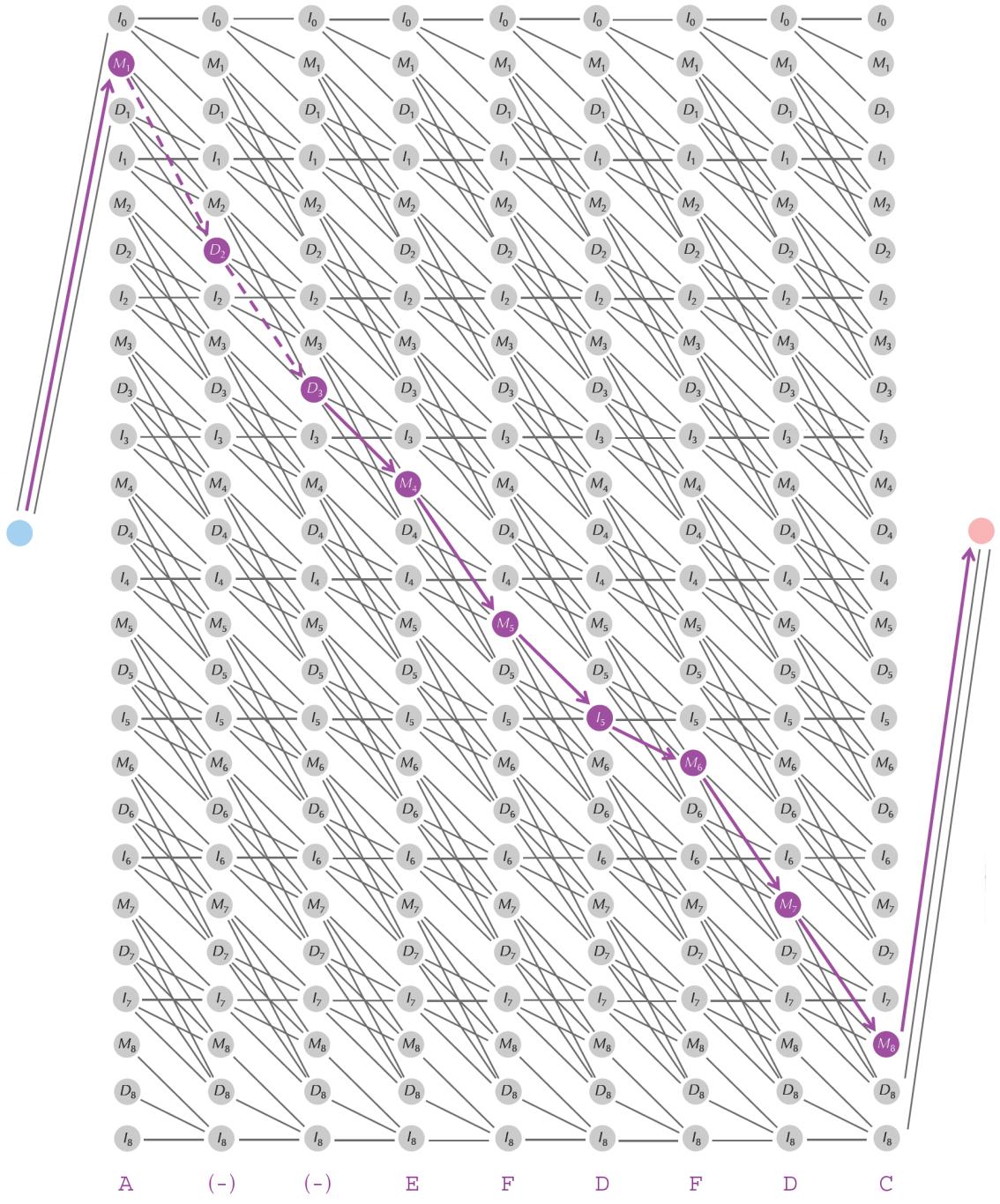
- пролазак кроз стање поклапања M_i заправо представља емитовање текућег симбола, те поставља тај симбол управо у колону i поравнања,
- пролазак кроз стање инсерције I_i такође представља емитовање текућег симбола, али поставља тај симбол између колона i и $i + 1$ поравнања,
- пролазак кроз стање делеције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

Поравнање је смислено уколико су проласком кроз скривени пут потрошени сви карактери улазног опажања, што се осигурува позадинским алгоритмом.

Остаје још питање како тачно наћи оптимални скривени пут. Јасно је да се може применити Витербијев алгоритам, који је досад коришћен за проблем

ГЛАВА 4. Биолошки значај

декодирања. На слици 4.16 приказан је Витербијев граф и одговарајући скривени пут за љубичасто опажање $AEFDFDC$ из мотивационог примера.



Слика 4.16: Наивни Витербијев граф профилног HMM[32]

Подсећања ради, основа Витербијевог графа је мрежа чворова чије редове чине сва могућа скривена стања (у конкретном случају профилног модела, за

ГЛАВА 4. Биолошки значај

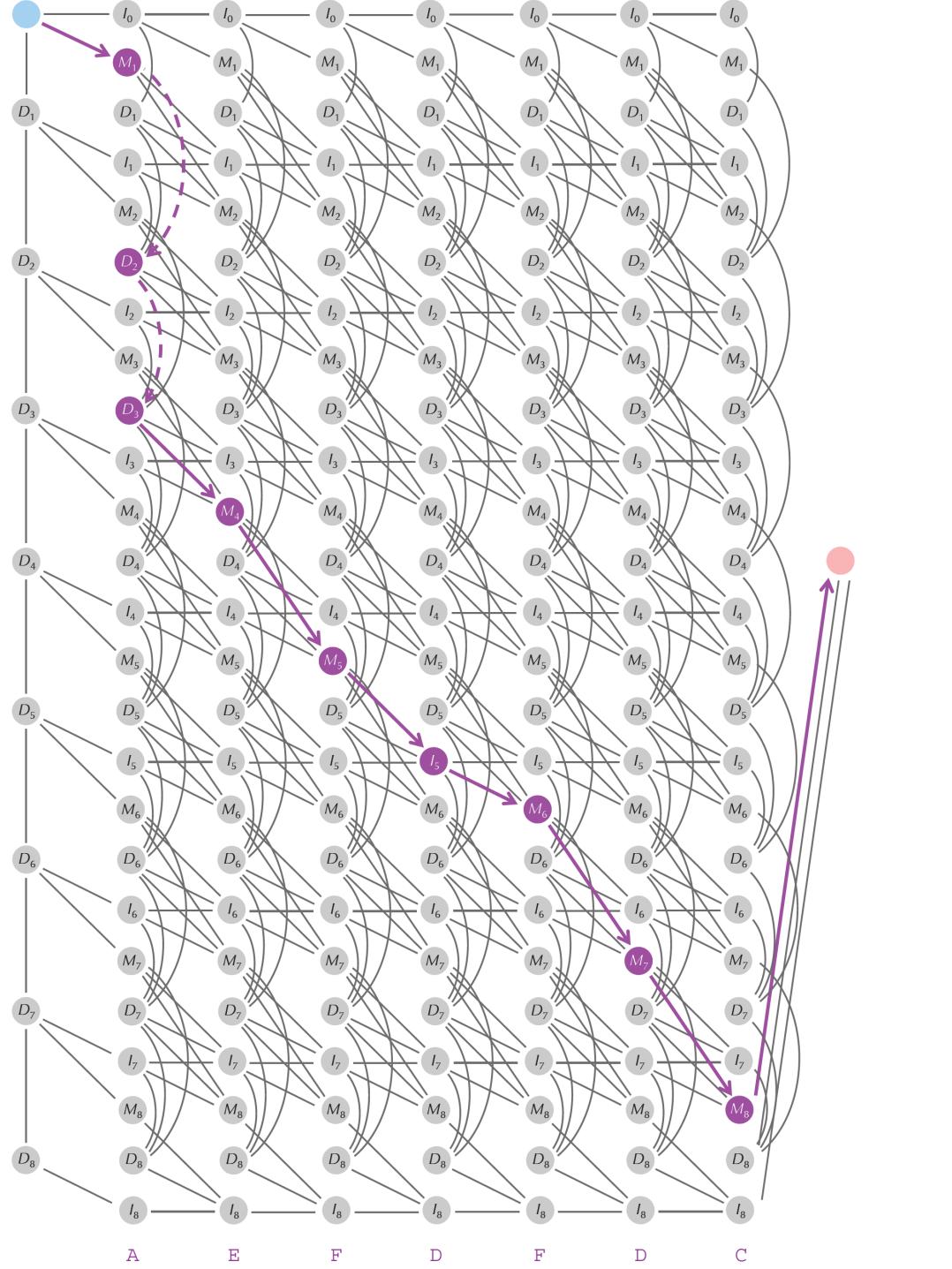
$n = 8$, има их 25, без експлицитног почетног и завршног, а у општем $3n + 1$), док колоне означавају ток времена, тренутак t . Из сваког чвора у колони $t - 1$ усмерена је по једна грана у сваки чвор из колоне t , али искључиво ако је дозвољен прелаз између та два стања. Тако је на основу чињенице да 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 $AEDFDCC$. 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 графом 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 граф приказан је на слици 4.17.



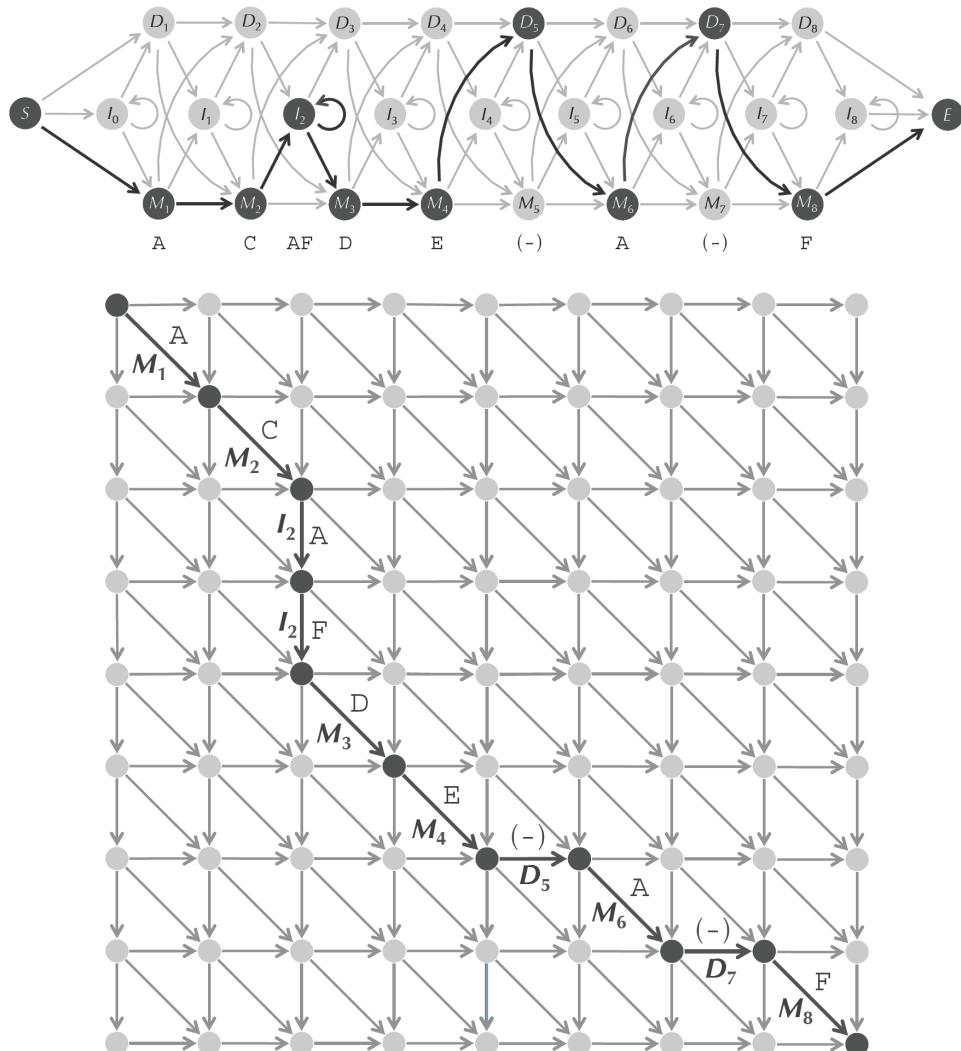
Слика 4.17: Коначни Витербијев граф профилног HMM[32]

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

ГЛАВА 4. Биолошки значај

извољни *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 из петог поглавља (*Chapter 5: How Do We Compare DNA Sequences? – Dynamic Programming*) са циклусима. Разлог томе је што се, како код Менхетна, тако и код Витербија, вредности морају рачунати према тополошком редоследу чворова. Другим речима, неопходно је да буду познате све родитељске вредности како би се евалуирао нови, текући чвор.



Слика 4.18: Поређење поравнања мотивационог примера[32]

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.

Претходна сличност између Витербијевог и Менхетн графа није случајна. Испоставља се да су то у неку руку аналогне структуре, а не само проблеми. На слици 4.18 приказана је њихова наизглед једнакост на већ 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 Менхетна 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 Менхетна.

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 ухватити суптилне сличности, које једноставна поравнања пропуштају. Можда најбољи део свега јесте да, упркос тој предности, сложеност остаје подједнако добра, и износи $O(nk)$ за n колона (дужина полазног поравнања) и k редова (дужина опажања).

Код Менхетна 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):

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

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

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

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

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

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

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

Коначан оптимални (највероватнији) пут добија се додатном максимизацијом:

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

У уџбеничкој верзији претходних формула налази се трећи најављени пропуст из књиге. Конкретно, код рекурзивне формуле за стања поклапања M_i , која је једина и приказана, стављене су вероватноће прелаза a_{I_{i-1},I_i} и a_{D_{i-1},D_i} уместо a_{I_{i-1},M_i} и a_{D_{i-1},M_i} . Ова грешка, међутим, није присутна на Певзнеровој презентацији, где су формуле тачно написане, мада користе друге ознаке.

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

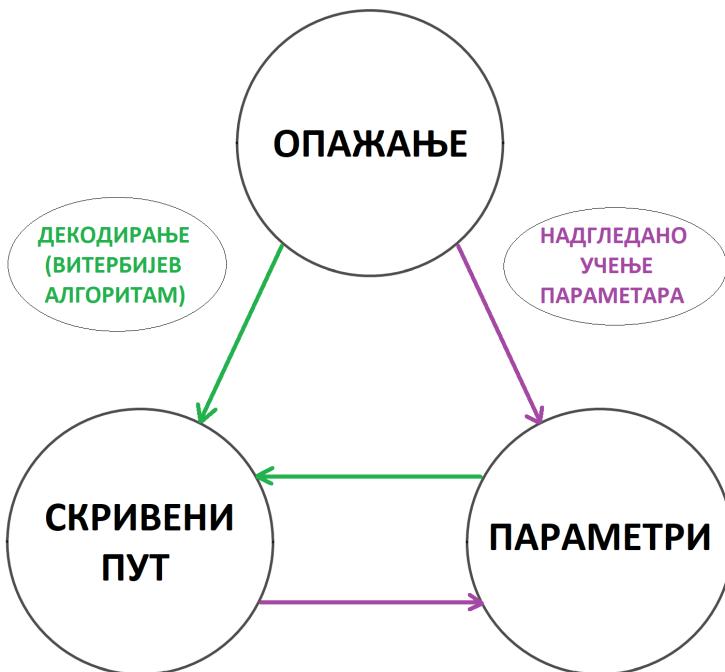
Учење модела

Досад је приказана употреба скривених Марковљевих модела у решавању биолошких проблема који се могу схватити како као задаци надгледаног (класификација протеина), тако и ненадгледаног машинског учења (означавање *CG* острва). У последњој глави, излагање се допуњује још једном важном особином *HMM* која је 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



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 учења већи број пута, а затим узимање најбољих параметара из свих покретања. Што се тиче критеријума заустављања, најчешћа су два: унапред одређени број итерација или граница минималног повећања вероватноће која се максимизује.

5.2 Баум-Велчово учење

...

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 мотивационом примеру непоптене 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, као на слици 2.2. Објашњен је значај оваквих модела како код проблема надгледаног, тако и код проблема ненадгледаног машинског учења. Наведене су и многе њихове могућности.

Уобичајено гледиште је да се *HMM* баве трима питањима, односно решавају три типа проблема – оцењивање, декодирање и учење[54]. 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[43]. 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

Свеукупно, скривени Марковљеви модели прешли су дуг пут од првих употреба у рачунарској биологији (нпр. Черчил 1989[29], Крог и сарадници 1994[47], Балди и сарадници 1994[23]) 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 пацијенти 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[26].

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[12]. 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 предложена решења из књиге *Bioinformatics Algorithms*, али и многа друга. Како се кодови интерпретирају, они су у потпуности интерактивни и могу лако послужити за самосталан студенчки рад и детаљније упознавање са имплементацијама. За случај да читаоцу нису доступни *Python* интерпретатор и/или *Jupyter* сервер, направљена је и *HTML* верзија материјала, која, додуше, није интерактивна.

Замисао обрађене лекције будућег електронског уџбеника јесте да допринесе усвајању знања о скривеним Марковљевим моделима и њиховој примени у биоинформатици, чак и независно од тога слуша ли читалац мастер курс Увод у биоинформатику на Математичком факултету Универзитета у Београду. За разумевање главних појмова неопходно је само основно предзнање из математике (углавном вероватноће) и биологије (улавном генетике), мада је јасно да за потпуно разумевање близкост тематици – статистичкој, рачунарској, биолошкој – представља предност. У сваком случају би било добро да иницијатива у оквиру које уџбеник настаје заживи, те да у најскоријем року свака лекција буде доступна у потпуности у електронском облику.

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] Bioinformatics Algorithms. званични сајт књиге/уџбеника из биоинформатике: <https://www.bioinformaticsalgorithms.org/>.
- [3] Bioinformatika. званични сајт курса Увод у биоинформатику и уопшено биоинформатике: <http://www.bioinformatika.matf.bg.ac.rs/>.
- [4] 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>.
- [5] HMMER: biosequence analysis using profile hidden Markov models. алат бесплатно доступан на интернет адреси: <http://hmmer.org/>.
- [6] Pfam 34.0 (March 2021, 19179 entries). информације о алату и сам алат бесплатно доступни на интернет адреси: <http://pfam.xfam.org/>.
- [7] The GENSCAN Web Server at MIT. информације и алат бесплатно доступни на интернет адреси: <http://argonaute.mit.edu/GENSCAN.html>.
- [8] WebLogo, Version 2.8.2 (2005-09-08). Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, онлајн апликација за илустрацију мотива бесплатно доступна на: <https://weblogo.berkeley.edu/>.
- [9] 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.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [10] Лазар Васовић. Биоинформатика, 07 2021. Classtools.net, ауторски Венов дијаграм: <https://www.classtools.net/Venn/202107-QTgda5>.
- [11] Лазар Васовић. COVID u Srbiji, 05 2021. GitHub, репозиторијум доступан на интернет адреси: <https://github.com/matfija/COVID-u-Srbiji>.
- [12] Лазар Васовић. HMM u bioinformatici, 09 2021. GitHub, репозиторијум доступан на: <https://github.com/matfija/HMM-u-bioinformatici>.
- [13] Compute the Probability of a Hidden Path, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10a/>.
- [14] Compute the Probability of a String Emitted by an HMM, 09 2015. ROSALIND, доступно на: <http://rosalind.info/problems/ba10d/>.
- [15] Compute the Probability of an Outcome Given a Hidden Path, 09 2015. ROSALIND, доступно на: <http://rosalind.info/problems/ba10b/>.
- [16] Construct a Profile HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10e/>.
- [17] Construct a Profile HMM with Pseudocounts, 09 2015. ROSALIND, задатак доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10f/>.
- [18] Estimate the Parameters of an HMM, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10h/>.
- [19] Implement the Viterbi Algorithm, 09 2015. ROSALIND, доступно на интернет страници: <http://rosalind.info/problems/ba10c/>.
- [20] Implement Viterbi Learning, 09 2015. ROSALIND, задатак из уџбеника доступан на: <http://rosalind.info/problems/ba10i/>.
- [21] Perform a Multiple Sequence Alignment with a Profile HMM, 09 2015. ROSALIND, доступно на: <http://rosalind.info/problems/ba10g/>.
- [22] 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_

БИБЛИОГРАФИЈА

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC99071/>
- [23] 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>.
- [24] 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/>.
- [25] 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>.
- [26] 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>.
- [27] 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/>.
- [28] 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>.
- [29] 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/>.
- [30] Marek Cmero. Frequently Asked Questions about a Career in Bioinformatics, 09 2015. Genome Jigsaw, чланак блога бесплатно доступан на интернет адреси: <https://genomejigsaw.wordpress.com/2015/09/27/faq/>.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [31] Ichael Cohen, David Rumelhart, Nelson Morgan, Horacio Franco, Victor Abrash, and Yochai Konig. Combining Neural Networks And Hidden Markov Models For Continuous Speech Recognition. 06 1999. чланак бесплатно доступан на интернет адреси: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.50.1857&rep=rep1&type=pdf>.
- [32] Phillip Compeau and Pavel Pevzner. *Bioinformatics Algorithms: An Active Learning Approach, 2nd Edition, Vol. II.* Active Learning Publishers, LLC, 2015. претпоследње поглавље *Chapter 10: Why Have Biologists Still Not Developed an HIV Vaccine? – Hidden Markov Models*, стране 178–233.
- [33] Aron Culotta, David Kulp, and Andrew McCallum. Prediction of complete gene structures in human genomic DNA. 2005. Department of Computer Science, University of Massachusetts, Amherst, чланак бесплатно доступан на адреси: <http://ciir.cs.umass.edu/pubfiles/ir-419.pdf>.
- [34] 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/>.
- [35] Nabiilah Ardini Fauziyyah. Bioinformatics: Decoding Nature’s Code of Life, 12 2019. Algoritma Technical Blog, чланак блога бесплатно доступан на интернет адреси: <https://algotech.netlify.app/blog/bio-intro/>.
- [36] JC Fletcher. Learning Japanese board game culture from Yakuza 0, 03 2017. Polygon, чланак блога доступан на интернет адреси: <https://www.polygon.com/2017/3/10/14848222/learning-japanese-board-game-culture-from-yakuza-0>.
- [37] 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.
- [38] J Henderson, S Salzberg, and Fasman K H. Hidden Markov Models and their Applications in Biological Sequence Analysis. *Journal of Computational Biology*, 4(2):127–41, 04 1997. чланак доступан на: <https://drum.lib.umd.edu/bitstream/handle/1903/8004/FindingGenes.pdf>.

БИБЛИОГРАФИЈА

- [39] Susan Holmes. Hidden Markov Model for CpG islands, 2012. Stats366 / Stats 166 Course Notes, белешке са предавања доступне на: <https://web.stanford.edu/class/stats366/exs/HMM1.html>.
- [40] 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>.
- [41] 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/jvirol00042-0547.pdf>.
- [42] Michael I. Jordan. Hidden Markov Models & The Multivariate Gaussian, 10 2004. Department of Electrical Engineering and Computer Sciences, UC Berkeley, белешке са предавања бесплатно доступне на интернет адреси: <https://people.eecs.berkeley.edu/~jordan/courses/281A-fall04/lectures/lec-10-26.pdf>.
- [43] Manolis Kellis. 7.5: Algorithmic Settings for HMMs, 03 2021. Biology LibreTexts, ауторски текст професора доступан на: <https://bio.libretexts.org/@go/page/40957>.
- [44] 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>.
- [45] Ghazaleh Khodabandelou, 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>.
- [46] Keith Knapp and Yi-Ping Phoebe Chen. An evaluation of contemporary hidden Markov model genefinders with a predicted exon taxonomy. *Nucleic*

БИБЛИОГРАФИЈА

- Acids Research*, 35(1):317–24, 01 2007. чланак доступан на интернет адреси: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1802560/>.
- [47] 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/>.
 - [48] Anthony Lee and Sergei Lebedev. hmmlearn, 02 2021. документација доступна на: <https://hmmlearn.readthedocs.io/en/latest/>, GitHub позиторијум: <https://github.com/hmmlearn/hmmlearn>.
 - [49] 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>.
 - [50] Hussain Mutjaba. Frequently Asked Questions about a Career in Bioinformatics, 05 2020. Great Learning, чланак блога доступан на интернет адреси: <https://www.mygreatlearning.com/blog/pos-tagging/>.
 - [51] 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>.
 - [52] Natalia Ponomareva, Paolo Rosso, Ferran Pla, and Antonio Molina Marco. Conditional random fields vs. hidden markov models in a biomedical named entity recognition task. 09 2007. чланак доступан на: http://personales.upv.es/prossò/resources/PonomarevaEtAl_RANLP07.pdf.
 - [53] Qef. File:Hmm_temporal_bayesian_net.svg. Wikimedia Commons, илустрација скривеног Марковљевог модела са Викимедије: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hmm_temporal_bayesian_net.svg.
 - [54] Lawrence Rabiner. A Tutorial on Hidden Markov Models and Selected Applications. *Proceedings of the IEEE*, 77(2):257–86, 02 1989. чланак доступан на интернет адреси: <https://web.ece.ucsb.edu/Faculty/Rabiner/ece259/Reprints/tutorial%20on%20hmm%20and%20applications.pdf>.

- [55] Jacob Schreiber. pomegranate, 05 2021. документација доступна на: <https://pomegranate.readthedocs.io/en/latest/>, GitHub репозиторијум: <https://github.com/jmschrei/pomegranate>.
- [56] Ron Shamir, Ron Wein, and Nir Avrahami. Lecture 6: January 10, 1999 – Hidden Markov Models, 01 1999. Algorithms for Molecular Biology, Fall Semester, 1998, Blavatnik School of Computer Science, Tel Aviv University, белешке са предавања доступне на: <http://www.cs.tau.ac.il/~rshamir/algmb/98/scribe/pdf/lec06.pdf>.
- [57] Mark Stamp. A Revealing Introduction to Hidden Markov Models. 2021. доступно на: <http://www.cs.sjsu.edu/~stamp/RUA/HMM.pdf>.
- [58] Tdunning. File:HiddenMarkovModel.png. Wikimedia Commons, илустрација скривеног Марковљевог модела са Викимедије: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HiddenMarkovModel.png>.
- [59] 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.ase.ohio-state.edu/goel.1//STAT825/PAPERS/viterbiErrBnds.pdf>.
- [60] 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>.
- [61] Byung-Jun Yoon. File:HMM Eukaryotic.jpg. Wikimedia Commons, илустрација скривеног Марковљевог модела еукариотске DNA са Викимедије: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:HMM_Eukaryotic.jpg.
- [62] 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/>.