Sekvencia 1:

gagacccgcctaggtgaatatttagcagc
gattaaataccacgtaTATAAGGTGGACC
GTTCCTCGAGAGGTTCTTCCGGCAATGAC
GGCCAGAGCAAAAGCCACGTgtaggactg
catacgcctctacgcctccactgacgcga
tgatgtggcgtggatctgtttgctcttgg
tataggtcacggagacggctggtactgat
cccttcgggagtaaaaatataatgaccat
ggcccaggcttcaggagggagttgtgcgg

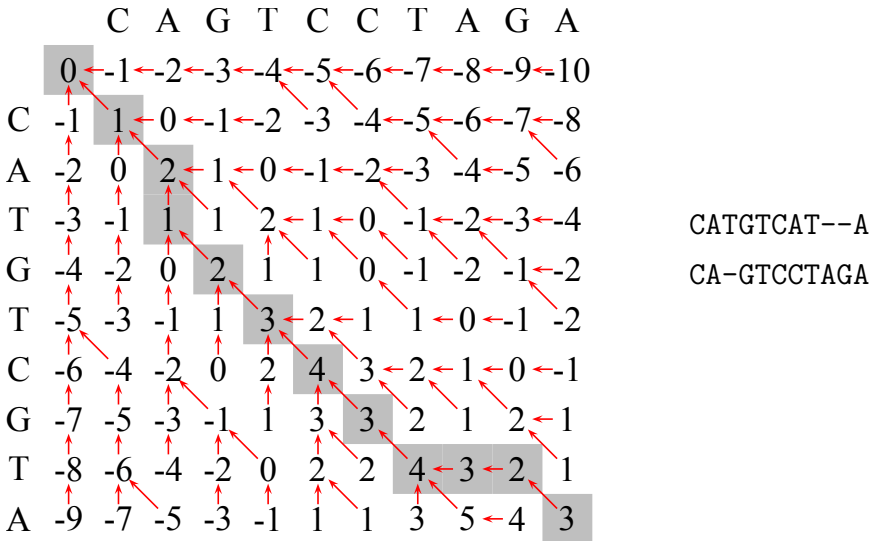
Sekvencia 2:

tgtacagcactgcaacgagcatctggggg
ttggttattccgatggcgctggacagcta
gcggacagtagttctcaggccttagtaga
aaggtgggaaccccctATGAGGTCGACCG
TTTCAGCGTGACTATAGACGTCATTGAAG
CAATATACAGGAACACCACCTacttagga
agggagttcggtgcagtaaagcattctta
cctcagggcacggtagagaacactacaac
cagaatagcaacgtgatgcggcgactctc

Lokálne zarovnanie:

```
TATAAGGTGGACCGTT--------CCTCGAGAGGTTCTTCCGGCAATGGCCACGAGAGCAAAAGCCACGT
TATGAGGTCGACCGTTTCAGCGTGACTATAGACGTCATTGAAGCAATATACAGG------AACACCACCT
```

Obr. 1.1: Dve sekvencie a ich lokálne zarovnanie. Veľkými písmenami a červenou farbou sú vyznačené zarovnané časti. V zarovnaní sa nachádzajú zhody, nezhody a medzery v oboch sekvenciách



Obr. 1.3: Tabuľka dynamického programovania pre globálne zarovnanie (vľavo) a výsledné zarovnanie (vpravo). Skóre je +1 za zhodu a -1 za nezhodu alebo medzeru.

bude teda $A[i-1,j]-1$. V prípade, že posledný stĺpec obsahuje len y_i, tak skóre vypočítame analogicky.

Najlepšie skóre bude maximálne skóre pre všetky 3 prípady. Dostávame teda nasledujúci vzťah pre výpočet $A[i,j]$:

$$A[i,j] = \max \begin{cases} A[i-1,j-1] + s(x_i, y_j) \\ A[i-1,j] - d \\ A[i,j-1] - d \end{cases}$$

Maticu vieme vypĺňať po riadkoch, pričom každé políčok vieme vypočítať z troch políčok, ktoré už sú vypočítané. Políčko $A[0,0] = 0$ a krajné políčka potom vieme vypočítať ako $A[i,0] = A[i-1,0] - d$ a $A[0,j] = A[0,j-1] - d$

Ak nás zaujíma aj zarovnanie – nie len jeho skóre – vieme si pre každé políčko zapamätať ktorá z troch možností dosiahla maximálnu hodnotu (červené šípky na obr. 1.3). Na základe tejto informácie potom vieme zrekonštruovať zarovnanie tak, že postupne z posledného políčka ($A[n,m]$) budeme prechádzať na políčko, z ktorého sme vypočítali aktuálnu hodnotu.

Časová zložitosť je $O(nm)$, pretože vypĺňame nm políčok, každé v konštantnom čase. Zjavne aj pamäťová zložitosť je $O(nm)$.

Pamäťová zložitosť sa dá zredukovať na $O(n + m)$ za cenu zhruba dvojnásobného času výpočtu [Hir75].

1.5.2 Algoritmus pre lokálne zarovnanie: Smith-Waterman

		C	A	G	T	C	C	T	A	G	A
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
T	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
G	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
T	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0
C	0	1	0	0	1	3	2	1	0	0	0
T	0	0	0	0	1	2	2	3	2	1	0
A	0	0	1	0	0	1	1	2	4	3	2
T	0	0	0	0	1	0	0	2	3	3	2

```
GT-CTA
GTCCTA
```

Obr. 1.4: Tabuľka dynamického programovania pre lokálne zarovnanie (vľavo) a výsledné zarovnanie (vpravo). Skóre je +1 za zhodu a -1 za nezhodu alebo medzeru.

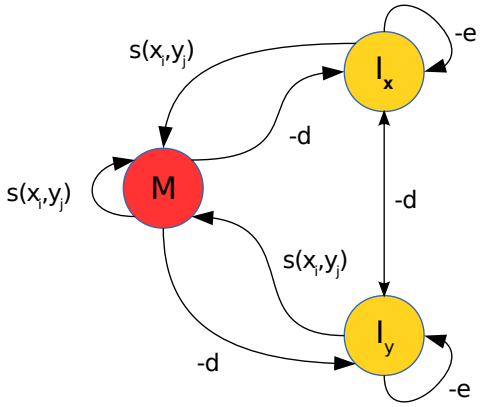
Algoritmus pre lokálne zarovnania sa líši len v niekoľkých malých detailoch. Opäť vypĺňame maticu A, s tým, že v $A[i, j]$ bude najvyššie skóre lokálneho zarovnania medzi sekvenciami $x_1x_2 \ldots x_i$ a $y_1y_2 \ldots y_j$, ktoré buď obsahuje bázy x_i aj y_j, alebo je prázdne. Teda na ľubovoľnom mieste uvažujeme aj prázdne zarovnanie so skóre 0 (v matici nebudú záporné čísla). Vzťah pre výpočet $A[i, j]$ vyzerá takto:

$$A[i,j] = \max \begin{cases} 0 \\ A[i-1, j-1] + s(x_i, y_j) \\ A[i-1, j] - d \\ A[i, j-1] - d \end{cases}$$

V tomto prípade sú všetky krajné políčka nulové.

Zarovnanie potom nájdeme tak, že začneme z políčka s maximálnym skóre, a postupne budeme prechádzať na políčka, z ktorých sme získali maximálnu hodnotu, kým nenarazíme na nulu.

Tieto vzťahy vieme popísať stavovým diagramom na obrázku 1.6:



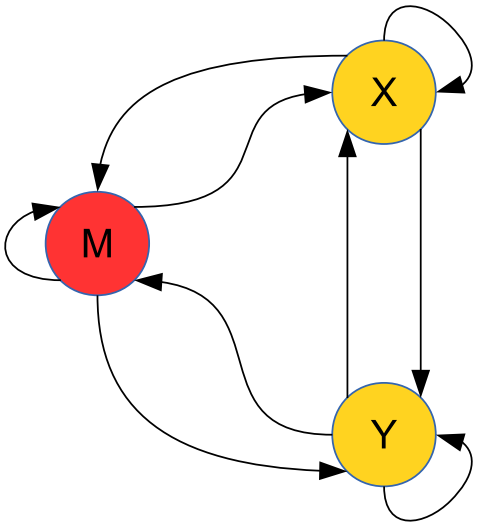
Obr. 1.6: Stavový diagram pre zarovnanie sekvencií - obsahuje *Match* (M), *InsertX* (I_x) a *InsertY* (I_y) stav a prechody medzi nimi spolu s ich cenou. Napríklad prechod z M do I_x znamená vloženie medzery do Y-ovej sekvencie a to penalizujeme $-d$

Časová zložitosť je $O(nm)$, pretože vypĺňame $3nm$ políčok, každé v konštantnom čase. Pamäťová zložitosť je opäť $O(nm)$ [DEKM98].

1.6 Zarovnávanie pomocou skrytých Markovovských modelov

Skrytý markovovský model (Hidden Markov Model, HMM) je generatívny pravdepodobnostný model, ktorý generuje náhodnú sekvenciu spolu s jej anotáciou (stavmi). HMM sa podobá na konečný automat. Skladá sa z konečného množstva stavov, prechodov medzi nimi a emisií. V každom kroku HMM vygeneruje a presunie sa do nejakého (aj toho istého) stavu. Generovanie symbolov aj presun medzi stavmi prebieha pravdepodobnostne. Konkrétny HMM je definovaný množinou stavov a nasledujúcimi distribúciami.

- distribúcia začiatočných stavov (pravdepodobnosť π_i, že HMM začne v stave i)
- distribúcia prechodov (pravdepodobnosť $a_{i,j}$, že HMM prejde zo stavu i do stavu j)
- distribúcia emisií (pravdepodobnosť $e_{i,x}$, že HMM v stave i vygeneruje symbol x)



Obr. 1.7: Párový HMM pre zarovnávanie sekvencií

Inicializácia ($*$ označíme ľubovoľnú možnú hodnotu):

$$V[0,0,M] = 1 \tag{1.1a}$$

$$V[i,0,*] = 0 \quad \forall i \tag{1.1b}$$

$$V[0,j,*] = 0 \quad \forall j \tag{1.1c}$$

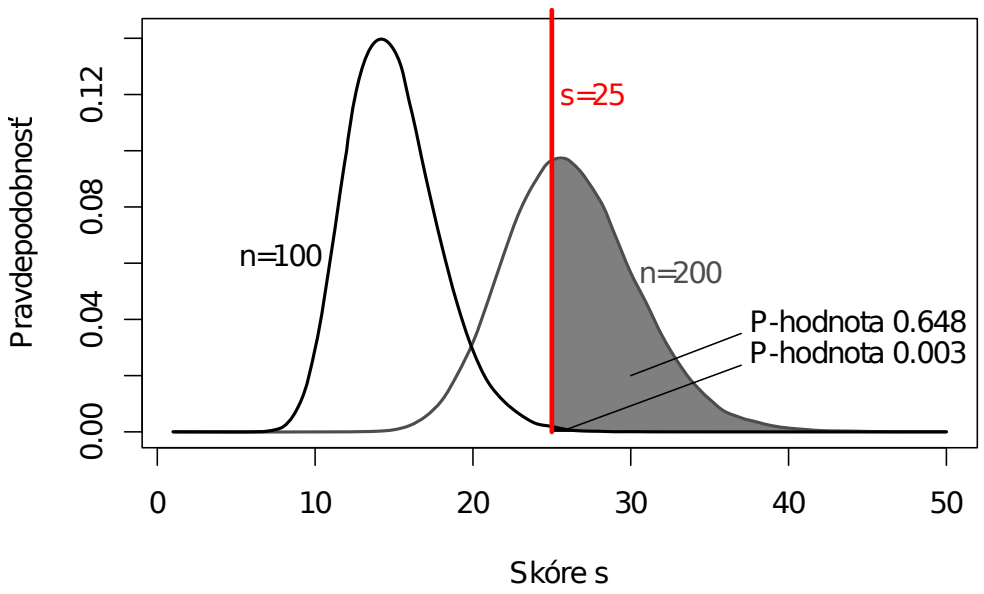
Rekurentné vzťahy:

$$V[i,j,M] = e_{M,(x_i,y_j)} \max \begin{cases} a_{M,M} V[i-1,j-1,M] \\ a_{I_x,M} V[i-1,j-1,I_x] \\ a_{I_y,M} V[i-1,j-1,I_y] \end{cases} \tag{1.2a}$$

$$V[i,j,I_x] = e_{I_x,x_i} \max \begin{cases} a_{M,I_x} V[i-1,j,M] \\ a_{I_x,I_x} V[i-1,j,I_x] \\ a_{I_y,I_x} V[i-1,j,I_y] \end{cases} \tag{1.2b}$$

$$V[i,j,I_y] = e_{I_y,y_j} \max \begin{cases} a_{M,I_y} V[i,j-1,M] \\ a_{I_y,I_y} V[i,j-1,I_y] \\ a_{I_x,I_y} V[i,j-1,I_x] \end{cases} \tag{1.2c}$$

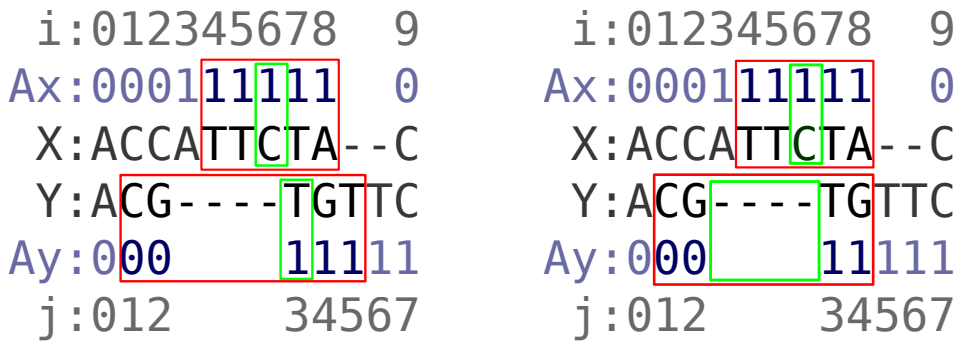
Algoritmus funguje takto: Nech n a m sú dĺžky sekvencií X a Y. Na začiatku nainicializuje hodnoty pre $V[0,*,*]$ a $V[*,0,*]$ podľa 1.1 ($*$ označíme ľubovoľnú možnú hodnotu). Potom postupne pre všetky $i = 1 \ldots n$, $j = 1 \ldots m$ a $u \in \{M, I_x, I_y\}$ dynamicky vypočíta $V[i,j,u]$ podľa 1.2.



Obr. 1.8: P-hodnota lokálneho zarovnania so skóre $s = 25$ medzi 2 sekvenciami dĺžky $n = 100$ alebo $n = 200$ (skórovanie $+1$ zhoda, -1 nezhoda alebo medzera). Rozdelenie bolo získané zarovnávaním 100000 párov náhodných sekvencií. Pri $n = 100$ je P-hodnota približne 0.003 a zodpovedá malej čiernej ploche pod krivkou napravo od zvislej čiary pre $s = 25$. Pri dlhších sekvenciách zodpovedá P-hodnota veľkej sivej ploche napravo od zvislej čiary. Pri takto dlhých sekvenciách očakávame skóre 25 alebo väčšie vo viac ako 60% prípadov čisto náhodou. Nejde teda o štatisticky významné zarovnanie.

Definícia okna

Okno veľkosti w pozostáva z $2w$ blokov veľkosti $k = (1 + \#\text{anotácií})$. Majme teda dve sekvencie, $X = x_1x_2 \dots x_n$ a $Y = y_1y_2 \dots y_n$ a pozície i a j. Pri Match klasifikátore okno veľkosti w obsahuje $x_{i-w/2} \dots x_i \dots x_{i+(1+w)/2}$, $y_{j-w/2} \dots y_j \dots y_{j+(1+w)/2}$ a všetky anotácie príslušných báz (obr. 2.2a). Pri Indel klasifikátore používame tiež dve pozície – prvá je pozícia bázy, na ktorú sa pýtame a druhá je pozícia medzery medzi dvoma bázami. Predpokladajme teraz, že X je sekvencia s bázou. Okno Indel klasifikátora veľkosti w obsahuje $x_{i-w/2} \dots x_i \dots x_{i+(1+w)/2}$, $y_{j-w/2} \dots y_j \dots y_{j+(1+w)/2-1}$ a všetky anotácie príslušných báz (obr. 2.2b).



(a) Match klasifikátor (b) Indel klasifikátor

Obr. 2.2: Okno klasifikátora veľkosti 5 pre pozície $i = 6$ a $j = 3$

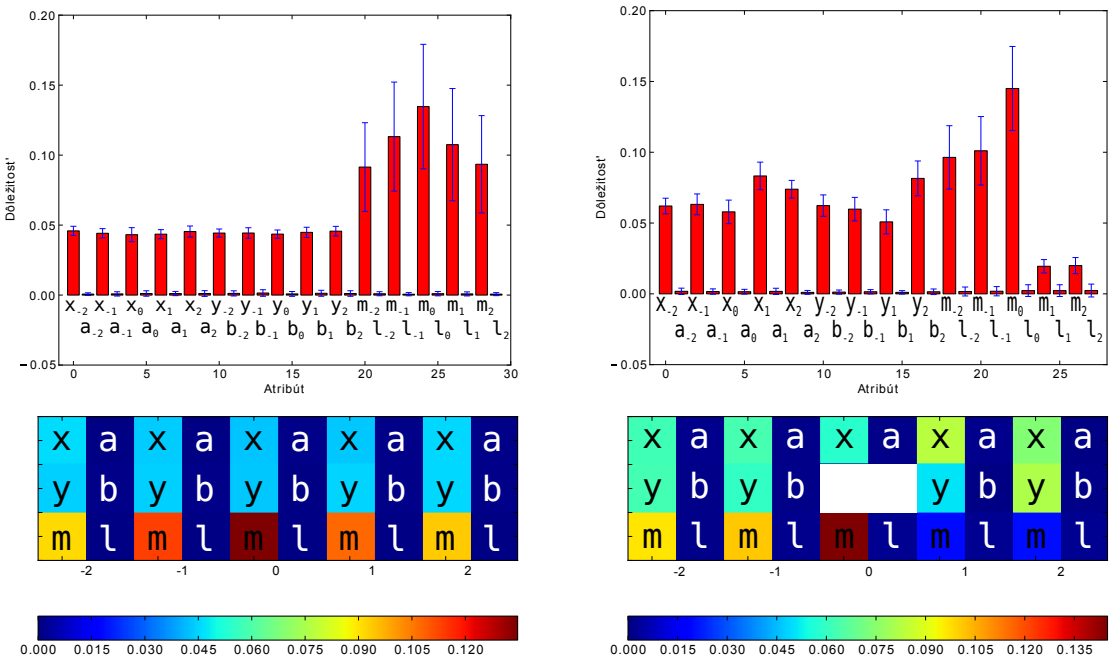
Typ dát A - okno bez úpravy

Ako prvý typ dát sme zobrali okno tak, ako sme ho definovali v predošlej sekcii. Dáta obsahujú priamo všetky bázy a anotácie tak, ako sú v okne.

Typ dát B - zhody v stĺpcoch okna

Druhý typ dát obsahuje aktuálnu bázu spolu s jej anotáciami a navyše pole veľkosti $k * w$, ktoré má na i-tom mieste jedna ak $okno_X[i] = okno_Y[i]$, ináč nula (w je veľkosť okna, k je veľkosť bloku, $okno_X$ je časť okna zodpovedajúca sekvencii X a $okno_Y$ sekvencii Y). V Indel klasifikátore je jedna malá zmena: pozícia nula aj jedna v x-ovej sekvencii sú porovnávané s pozíciou jedna v y-ovej a pozícia dva v x-ovej sa porovnáva

Pri type dát C si môžeme všimnúť, že najdôležitejšie atribúty sú na uhlopriečke, čo zodpovedá typu dát B, ibaže v tomto prípade sa nám vyskytli na niektorých pozíciách anotácie namiesto báz. Avšak ak sa nám tam vyskytla anotácia, bázu už klasifikátor nepovažoval za dôležitú a aj naopak. Indel klasifikátor navyše považoval za dôležitejšiu aj bázu na aktuálnej pozícii a jej anotáciu. Pri type dát C, na rozdiel od ostatných, klasifikátor viac berie do úvahy aj anotácie.



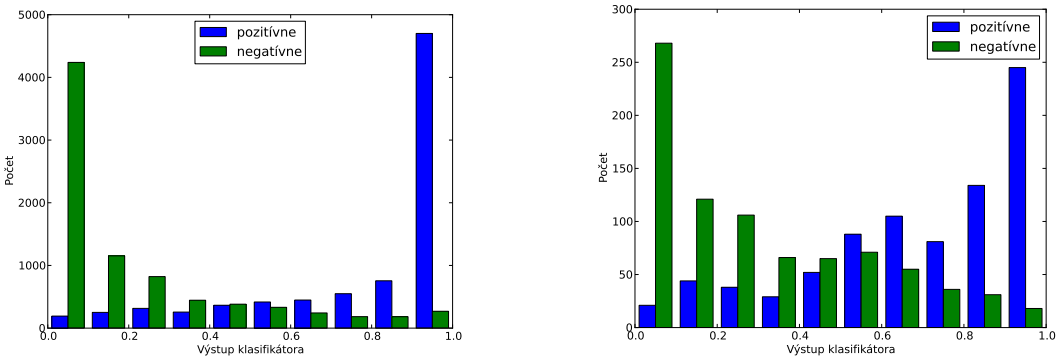
(a) Match klasifikátor (b) Indel klasifikátor

Obr. 2.3: **Dôležitosť atribútov pre typ dát D** - hodnoty sú normalizované, aby súčet bol jedna, modrý pásik označuje štandardnú odchýlku cez jednotlivé stromy v náhodnom lese. Pod grafom je tepelná mapa pre lepšiu vizualizáciu.

Pri dátach typu D sme dostali v prípade Match klasifikátora očakávanú distribúciu dôležitosti atribútov (obr. 2.3). Dáta typu B boli uprednostnené voči typu A, avšak aj bázy z typu A boli dôležité. Pri Indel klasifikátore sme dostali graf, ktorý je zložením grafov z dát typu A a B. Zaujímavosťou je, že pri tomto type dát má výraznejšiu úlohu práve zhoda na stredovej pozícii, teda pozície už nie sú také rovnocenné ako to bolo v type B.

2.3.2 Úspešnosť klasifikátora

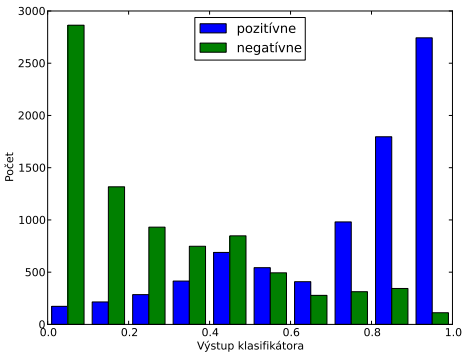
V tabuľke 2.1 vidíme, že hoci typ C obsahuje nadmnožinu atribútov B, jeho úspešnosť je nižšia a tento typ nemá zmysel používať. Ďalej si môžeme všimnúť, že kombinácia typov A a B využila klady oboch a mierne ich vylepšila.



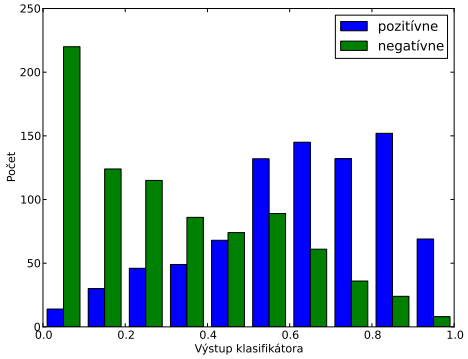
(a) Match klasifikátor (b) Indel klasifikátor

Obr. 2.4: Distribúcia výstupu z klasifikátora pri type dát D – modré sú pozitívne príklady a zelené su negatívne. Na x-ovej osi je výstup klasifikátora a na y-je počet inštancií, pre ktoré výstup z klasifikátora padol do daného chlievika

Úspešnosť klasifikátorov s rôznym typom dát sme skúmali aj podrobnejšie, pozerali sme sa aj na distribúciu výstupov klasifikátora. Silný klasifikátor má totiž distribúciu takú, že väčšina pozitívnych príkladov má vysoké výstupné hodnoty a väčšina negatívnych klasifikátorov má nízke výstupné hodnoty. Najlepšiu distribúciu výstupov sa nám podarilo dosiahnuť práve pri type D (obr. 2.4). Na obrázku 2.5 sú pre porovnanie najhoršie distribúcie z ostatných typov dát.



(a) Typ C: Match klasifikátor



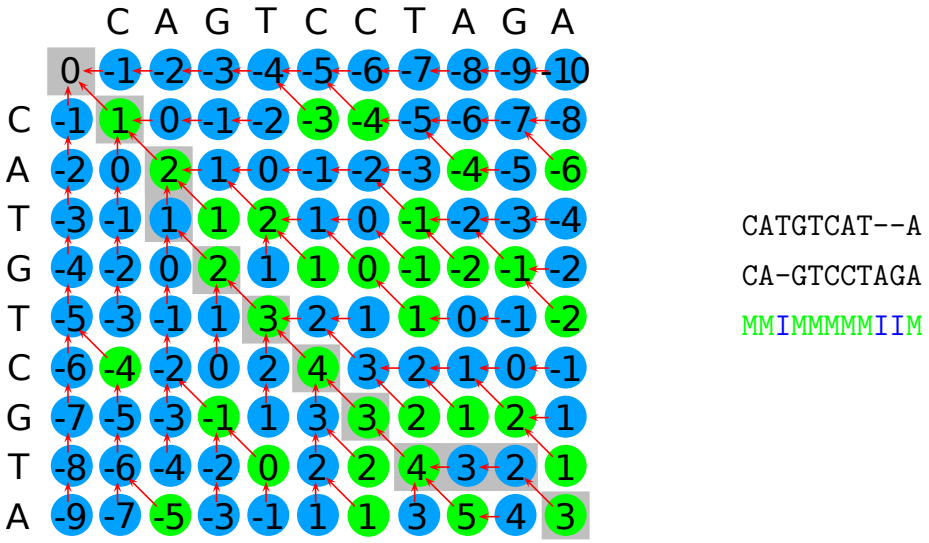
(b) Typ A: Indel klasifikátor

Obr. 2.5: Horšie distribúcie výstupov z klasifikátora – modré sú pozitívne príklady a zelené sú negatívne. Na x-ovej osi je výstup klasifikátora a na y-je počet inštancií, pre ktoré výstup z klasifikátora padol do daného chlievika

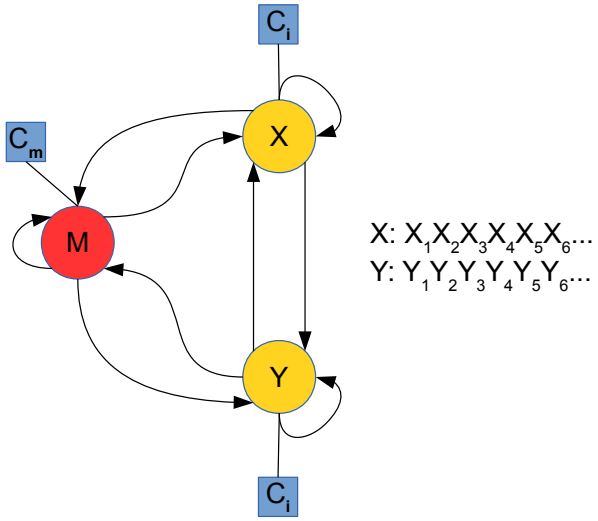
2.3.3 Nezávislosť typu dát na veľkosti okna

V tejto časti si ukážeme, že výber nášho typu dát nie je závislý na veľkosti okna. A teda môžme najskôr vybrať typ dát a potom sa rozhodnúť, akú veľkosť okna použijeme.

Z tabuľky 2.2 vidíme, že klasifikátor s atribútmi typu D je, až na okno veľkosti tri, vždy najlepší. Rovnako zostalo zachované aj poradie ostatných typov dát. Z toho môžme usúdiť, že pri voľbe typu dát nezáleží na veľkosti okna.



Obr. 3.1: Použité klasifikátory v klasifikátorovej páske pri zarovnávaní sekvencií. Pre jednoduchosť je použitá tabuľka z algoritmu Needelman-Wunch (kapitola 1.5.1) na globálne zarovnanie sekvencií. Viterbiho algoritmus používa tri tabuľky a cesta zarovnania vedie cez všetky tri. Zelenou farbou sú označené políčka, kde sa použije Match klasifikátor, modrou sú políčka, kde sa použije Indel klasifikátor. Šedou je vyznačené zarovnanie spolu s klasifikátorovou páskou pre zarovnanie. Vpravo je vypísané to isté zarovnanie spolu s klasifikátormi z klasifikátorovej pásky.



Obr. 3.2: Model s klasifikátorom ako emisiou

Vidíme teda, že zatiaľ čo

$$\sum_{x \in X, y \in Y} P(X = x \wedge Y = y) = 1,$$

pre

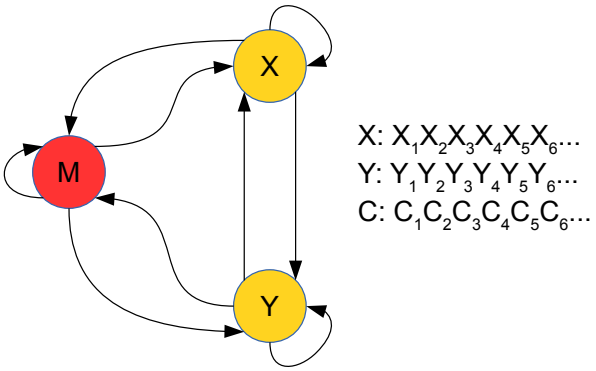
$$\sum_{x \in X, y \in Y} P(C = 1 | W = w)$$

takáto rovnosť neplatí. Viterbiho algoritmus však bude fungovať aj s hodnotami

$$P(C = 1 | W = w)$$

namiesto emisií a bude hľadať zarovnanie, ktoré bude maximalizovať takto definované skóre. O takomto modeli už však nemôžme hovoriť ako o pravdeopdobnostnom, ani ako o pHMM. Tento model je len inšpirovaný pHMM.

Keďže predošlý model nie je korektný pravdepodobnostný model, navrhli sme alternatívny model, *model s klasifikátorovou páskou (ďalej len model B)*, ktorý navyše modeluje aj výstup z klasifikátora, a teda je korektný pravdepodobnostný model. Nemodelujeme len dvojicu sekvencií, ale aj sekvenciu výstupov klasifikátora vo forme pásky, ktorú sme si definovali na v sekcii 3. Pásku s výstupom z klasifikátora považujeme za akúsi pomôcku pre náš zarovnávač. Klasifikátor môže vrátiť ľubovoľnú



Obr. 3.3: Model s klasifikátorovou páskou

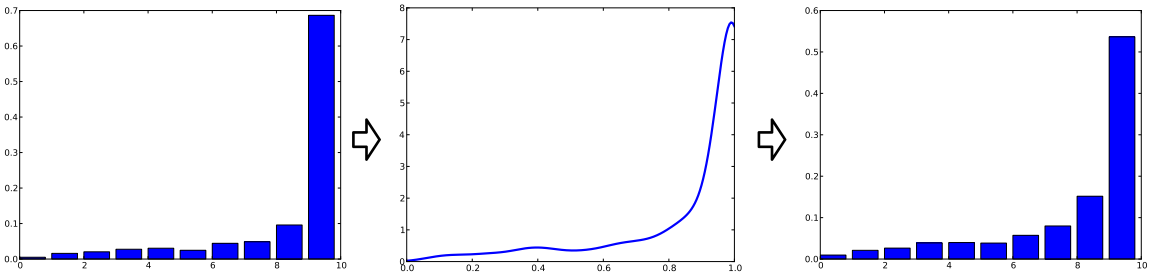
hodnotu z intervalu $\langle 0, 1 \rangle$. Klasické HMM robí iba s diskrétnymi hodnotami a keďže výstup z klasifikátora je spojitý, museli sme sa s týmto problémom vysporiadať. Preto sme navrhli dve varianty tohto modelu – diskrétnu a spojitú.

V diskrétnom modeli sme hodnoty klasifikátora rovnomerne rozdelili na b hodnôt a výstup sme zaokrúhlili na najbližšiu z nich. V našich modeloch sme zvolili $b = 10$.

Alternatíva k predošlej metóde je použiť spojitý HMM. Hlavný rozdiel medzi spojitými a diskrétnymi HMM je, že spojité HMM nepočítajú s pravdepodobnosťou, ale s hustotou. Hodnota hustoty v danom bode na rozdiel od pravdepodobnosti môže byť aj väčšia ako jedna. Podľa [HHL89], jedným zo štandardných spôsobov reprezentácie hustoty v spojitých HMM je zmes gausiánov, takže využijeme interpoláciu takouto distribúciou, a to budeme brať ako hustotu výstupu klasifikátora (obr. 3.4b).

3.1.2 Diskretizácia skóre klasifikátorov

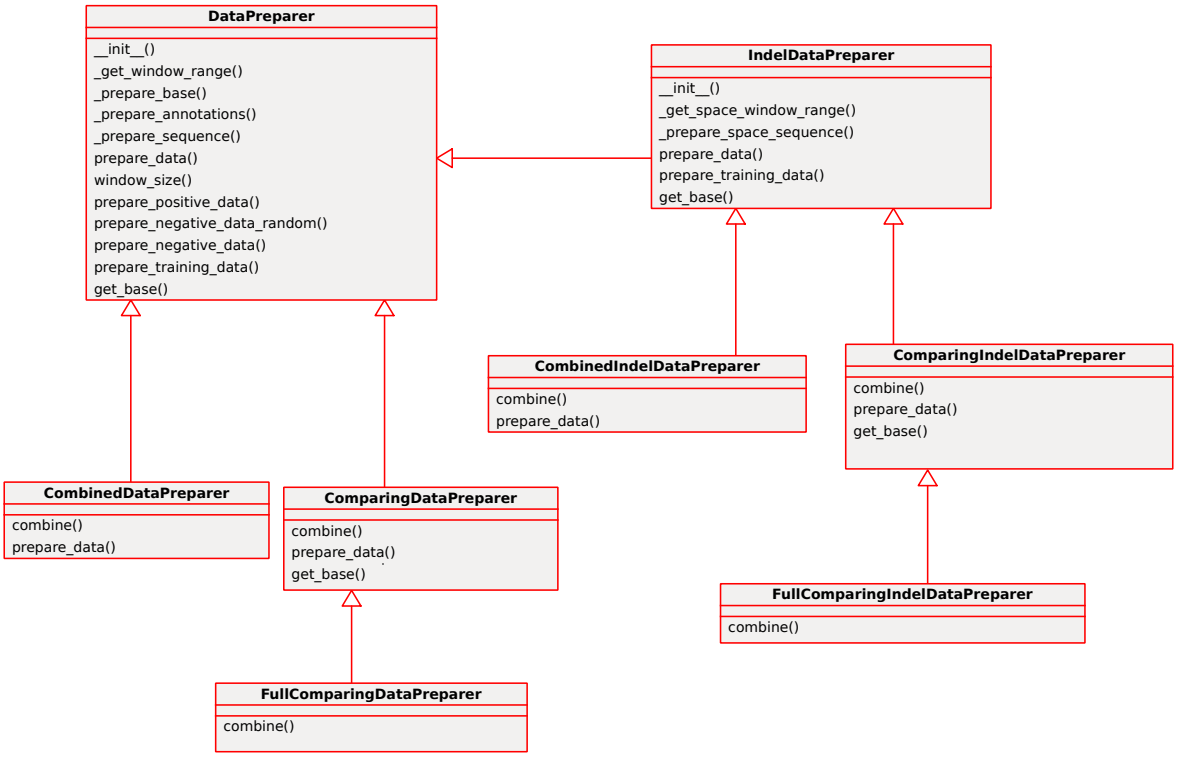
Pre diskrétnu verziu modelu B sme sa zaoberali spôsobom diskretizácie. Diskretizovať hodnoty môžme dvoma spôsobmi. Buď jednoducho spočítame histogram pre trénovacie dáta, alebo interpolujeme vstupnú vzorku pomocou spojitej distribúcie, napr. pomocou zmesi gausiánov (tak ako v spojitej verzii) a potom toto rozdelenie diskretizujeme (obr. 3.4). Druhá spomenutá metóda má výhodu v tom, že vyhladí šum a doplní chýbajúce dáta, ale keďže je použitá aproximácia, zavádza určitú nepresnosť. V oboch prípadoch si musíme zvoliť počet košov b, do ktorých dáta rozdelíme. Koše sme rozdelili rovnomerne a na základe experimentov (tabuľka 3.1) sme si zvolili $b = 10$.



(a) Histogram (b) Zmes gausiánov (c) Diskretizovaný gausián

Obr. 3.4: Dve možnosti diskretizácie výstupu klasifikátora: buď použijeme histogram 3.4a, alebo dáta najskôr aproximujeme pomocou zmesi gausiánov 3.4b a následne zdiskretizujeme ako na obr. 3.4c.

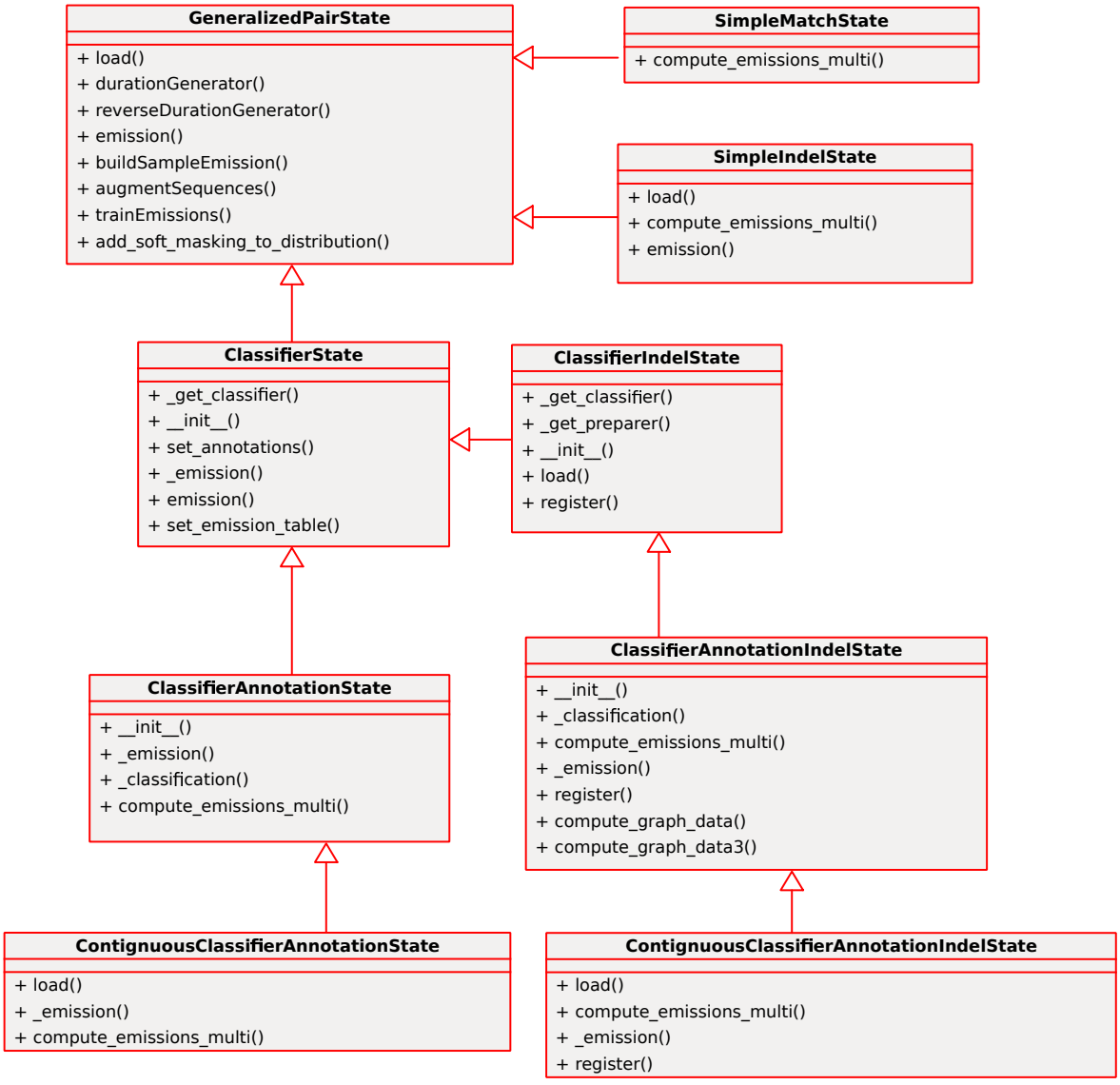
Ako vidíme z tabuľky 3.1, spojitá verzia modelu sa nám neosvedčila. Má totiž nedostatok, že distribučná funkcia nedosahuje maximum pri výstupe klasifikátora rovnom jedna, ale kúsok predtým, čo znamená istú penalizáciu v prípade, že si je klasifikátor príliš istý. Môžme si tiež všimnúť prudký pokles úspešnosti pri diskretizácii pomocou



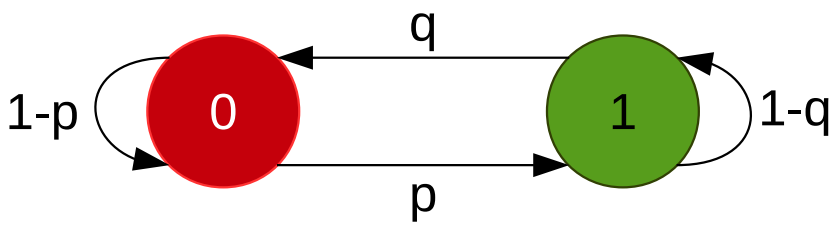
Obr. 4.1: Diagram tried pre DataPreparer-y

s hodnotou klasifikátora. Tieto triedy takisto obsahujú aj metódy na trénovanie emisií.

Od triedy *GeneralizedPairState* navyše dedia aj naše triedy pre referenčný model – *SimpleMatchState* a *SimpleIndelState* (obr. 4.2), ktoré triedu GeneralizedPairState rozširujú o metódy na trénovanie emisných pravdepodobností.



Obr. 4.2: Diagram tried pre stavy



Obr. 4.3: Markovova reťaz použitá na generovanie informácie o génoch. p je pravdepodobnosť, že začneme generovať gén, q je pravdepodobnosť, že prestaneme generovať gén.

do iného stavu, alebo ostaneme v tom istom. Rozhodnutie robíme pomocou *falošnej mince (biased coin)*, kde hlava padne s danou pravdepodobnosťou, ktorú nastavíme ako parameter. V našom prípade je to p pre stav nula a q pre stav jedna.

Simulácia mutácie a delécie

Ak už máme vygenerovanú základnú sekvenciu, potom vyrobíme zmutovanú sekvenciu tak, že s určitou pravdepodobnosťou nahradíme bázu zo základnej sekvencie inou bázou. Pravdepodobnosť závisí aj od toho, či je na danej pozícii gén v oboch sekvenciách, v jednej, alebo v žiadnej. Na rozhodovanie máme pre každú možnosť jednu falošnú mincu a podľa toho, ktorá z možností nastala, hodíme si príslušnou mincou.

Deléciu simulujeme opäť pomocou podobnej Markovovskej reťaze, pretože počas evolúcie majú tendenciu vypadávať súvislé úseky. Stav nula bude, že nemažeme a stav jedna, že mažeme, teda nahradzujeme danú bázu znakom `'-'`.

Využitie

Simulátor je prvá vec, ktorú sme implementovali a slúžil na väčšinu našich experimentov. Simulované dáta majú totiž oproti biologickým niekoľko výhod. Prvou je, že poznáme správnu odpoveď, a teda môžme objektívne zhodnotiť úspešnosť našich modelov. Druhou je možnosť zvoliť si parametre, ktoré menia závislosť mutácií na anotáciách a testovať správanie modelov, ak zvýšime túto závislosť.

4.4.1 Konfigurácia a Formáty súborov

Konfigurácia našich modelov sa nachádza v dvoch súboroch:

- `classifier_alignment/constants.py` – tu sa dá zmeniť veľkosť okna a či sú povolené anotácie
- `classifier_alignment/config.py` – tu sa dá zmeniť klasifikátor, datapreparer a či sa má použiť ten istý klasifikátor aj na Match aj na Inzert stav alebo nie. V tomto súbore sú preddefinované klasifikátory a datapreparer-y takže stačí zmeniť index označujúci, ktorý z nich sa má použiť.

Súbory zarovnania sú vo formáte FASTA[1], súbory anotácií sú vo formáte BED[2]. Súbory modelov sú vo formáte JSON[3], nasledujúceho tvaru:

```
{
  "model": {
    "states": [
      {
        "name": "Match",
        "durations": [[1, 1], 1.0]],
        "startprob": 0.33,
        "endprob": 1.0,
        "emission": [],
        "onechar": "M",
        "__name__": "SimpleMatchState"
      },
      {
        "name": "InsertX",
        "durations": [[1, 0], 1.0]],
        "startprob": 0.33,
        "endprob": 1.0,
        "emission": [],
        "onechar": "X",
        "__name__": "SimpleIndelState"
      },
      {
```

[1] http://en.wikipedia.org/wiki/FASTA_format
[2] http://genome.ucsc.edu/FAQ/FAQformat.html#format1
[3] JavaScript object notation

```
        "name": "InsertY",
        "durations": [[[0, 1], 1.0]],
        "startprob": 0.33,
        "endprob": 1.0,
        "emission": [],
        "onechar": "Y",
        "__name__": "SimpleIndelState"
      }
    ],
    "__name__": "GeneralizedPairHMM",
    "transitions": []
  }
}
```

Emisné a prechodové tabuľky sa vyplnia pri trénovaní modelu. Zaujímavé sú pre nás len položky `__name__` v jednotlivých stavoch. Tam treba vložiť meno príslušnej triedy pre stav.

Súbor pre konfiguráciu anotácií je JSON následujúceho tvaru:

```
{
  "__name__": "Annotations",
  "annotations": ["gene"],
  "sequences": [
    {
      "name": "sequence1", "annotations": [
        {
          "id": "gene",
          "file": "data/sequences/simulated/
              simulated_alignment_sequence1_gene.bed"
          "offset": 47
        }
      ]
    },
    {
      "name": "sequence2", "annotations": [
        {
          "id": "gene",
```

```
18            "file": "data/sequences/simulated/
                  simulated_alignment_sequence2_gene.bed"
19            "offset": 47
20          }
21        ]
22      },
23      {
24        "name": "sequence3", "annotations": [
25          {
26            "id": "gene",
27            "file": "data/sequences/simulated/
                  simulated_alignment_sequence3_gene.bed"
28            "offset": 47
29          }
30        ]
31      }
32    ]
33  }
```

Do `annotations` treba dať zoznam anotácií ktoré sa majú použiť a do `sequences` treba dať zoznam sekvencií – meno musí byť rovnaké ako vo FASTA súbore. Pre každú sekvenciu treba vyplniť v `annotations` pre každú anotáciu (id musí byť rovnaké ako v zozname anotácií) zdrojový súbor, odkiaľ sa má daná anotácia načítať. Navyše je možné špecifikovať `offset` v prípade, že sekvencia, ktorú chceme zarovnať, nezačína v genóme na pozícii 0 a anotácie sú číslované podľa pozícií v genóme.

4.5 Rozšírenie programu

Program je možné ľahko rozšíriť rôznymi spôsobmi. Je možné pridať:

- novú triedu pre stav
- nový DataPreparer
- nový klasifikátor