

ゲノム配列の種間・種内比較に基づく進化過程の推定

●渡邊日出海

北海道大学大学院情報科学研究科

＜研究の目的と進め方＞

本研究は、複雑な生命現象の分子機構を理解するために、遺伝情報の総体であるゲノムから生物情報を抽出することを目標とするものである。生命現象を支える分子機構についての理解は、たんぱく質を代表とする生体高分子そのものの特性を直接的に明らかにすることによって進められるが、さらに、それらの進化的発生過程に関する情報を引き出すことにより、より深いものとなる。そこで、現生生物が持つ遺伝情報の発生過程を明らかにするために、大量ゲノム配列データの種間・種内比較解析を行い、様々な生物種、特に高等真核生物の進化ならびに多様な生体内分子システムの発生進化に関する情報を可能な限り多く取得し、遺伝情報の変化として生物進化を記述し、後生動物などの出現に深くかかわった遺伝子の機能変化やヒト固有遺伝情報の発見とその機能推定を行うことを目指した。

研究期間を通して、以下のようなゲノム配列の種間・種内比較解析を実施することを計画した。

- ・塩基レベルでの大規模なゲノム比較解析を計算機上で行うための環境整備
- ・研究対象生物のゲノム配列の決定
- ・実際のゲノムデータを用いた比較解析の実施
- ・ゲノム内に存在する機能的に重要な遺伝情報を網羅的に抽出
- ・実験による機能解析に関する指針の提供

＜研究開始時の研究計画＞

具体的には、以下の項目を実施することを計画した。

- ①ゲノム配列データの種間・種内比較解析を通して、ヒトを含む様々な生物種、特に高等真核生物の進化と多様な生体内分子システムの発生進化を遺伝情報の変化として記述する。その結果に基づいて、例えばヒト固有遺伝情報の発見や後生動物の出現に深くかかわった遺伝子の出現や機能変化などの推定を行う。
- ②「統合ゲノム」が目指すことの一つである「ヒトへの進化のメカニズムの解明」ならびに「近縁種など多様な生物との比較ゲノム解析を行うことにより、生物進化のメカニズムの解明」を行う。
- ③本研究では、研究代表者が長年行ってきた比較ゲノム解析を中心とする遺伝情報の網羅的解析を行い、その結果得られる多くの進化情報に基づいて、ゲノムそのものの進化過程を記述し、生物種の進化過程を遺伝情報の変化の形で可能な限り高精度で推定することを目指す。このようなゲノムの塩基配列レベル・遺伝子セットレベルでの進化過程の再構築を目指す研究はそれまで行われておらず、新たなゲノム研究の分野を切り開き、生物学的に重要な研究成果を出すことが期待された。
- ④具体的には、チンパンジーゲノム配列を高精度で決定し、それをヒトゲノム配列と比較することにより両者の間の違いを見出し、更に、その相違をゴリラやその他の近縁外群生物種のゲノムにおいても調べることで、両生物種間の種分化後、特にヒトゲノムにおいて生じた

変化、すなわち、ヒト固有遺伝情報の獲得過程を明らかにしていく。副産物として、チンパンジーや、部分的にはあるがゴリラ、オランウータンなどのゲノムにおける変化も明らかにする。この研究によって、上記の「ヒトへの進化のメカニズムの解明」が進むと考えられる。

国内外において、このような研究と同等なものは存在していなかった。

2000年度から2001年度にかけて、従来行われていなかったゲノムDNA配列の比較に基づいて機能的に重要なゲノム内遺伝情報を網羅的に抽出する方法を確立することを目的として、種内種間比較を通してゲノムDNA配列内に保存構造を見出し、それらを遺伝子領域内保存構造と遺伝子領域外保存構造に分けるなどして、保存構造が持つ機能の範囲を限定していく手続きをとり、実験的機能解析に指針を与えることを目指した。また、ヒトを中心にして、マウスやチンパンジー、ショウジョウバエ、線虫、シロイヌナズナ、酵母などのゲノムを比較し、ゲノムを種特異的な領域と他の生物種と共有している機能構造領域に分け、それらの構造が出現した時期を種の系統関係を基に系統樹上にマップし、多様化の過程とゲノム構造の変化との相関を調べることも目指した。その結果を基礎として、複雑な生物内システムを構成している部分構造間の依存関係が如何にして生じてきたのかを明らかにすることを目指す。

続いて、研究代表者が長年行ってきた比較ゲノム解析を中心とする遺伝情報の網羅的解析を行い、その結果得られる多くの進化情報に基づいて、ゲノムそのものの進化過程を記述し、生物種の進化過程を遺伝情報の変化の形で可能な限り高精度で推定することを目指す。具体的には、チンパンジーゲノム配列を決定し、それをヒトゲノム配列と比較することにより両者の間の違いを見出し、更に、その相違をゴリラやその他の近縁外群生物種のゲノムにおいても調べることで、両生物種間の種分化後、特にヒトゲノムにおいて生じた変化、すなわち、ヒト固有遺伝情報の獲得過程を明らかにしていくことを計画した。副産物として、チンパンジーや、部分的にはあるがゴリラ、オランウータンなどのゲノムにおける変化も明らかにされる。

＜研究期間の成果＞

2000年度においては、初めに、大量のゲノムDNA配列を短時間で比較するために、備品として購入したAlphaStation DS20E上に、最新のゲノムDNA配列データを公共データベースから定期的に自動で収集管理するシステムを構築した。この自動データ収集システムを用いて、ヒト、類人猿、霊長類、マウスなどを含むその他の哺乳類、ニワトリ、アフリカツメガエル、フグ、ショウジョウバエ、線虫、酵母、植物等の、真核生物のゲノムデータを定期的に収集し種毎に整理するようにした。当時、ヒトを除いた脊椎動物に限った場合、800メガ塩基対相当のデータが蓄積された。この収集されたゲノムDNA配列データを種内・種間で高速で自動比較するため

に、配列データを一旦加工した後、BLASTを用いて総当りの比較を行い、保存領域に関する情報を蓄積するシステムを構築した。比較解析データには、保存領域に関する、配列、保存度、ゲノム上あるいは配列データ上での位置と方向などが含まれる。比較解析結果から生物学的意味を抽出するために、まず、保存領域を含む遺伝子に関する情報をゲノムデータから抽出した。遺伝子に関する情報には、遺伝子内での位置、エクソン／イントロンの区別、遺伝子の機能が含まれる。保存領域の、遺伝子との位置関係などを見ることにより、保存領域が持つ機能の範囲を限定する。続いて、保存領域の中から、遺伝子内に見出されないもの、つまり遺伝子によって機能が限定されないものを選別する。その中で、CpG島の条件を満たすものを転写制御関連構造として機能分類し、更に、残ったものから遺伝子の近傍に存在する保存領域を抽出して、準転写制御関連構造とする。この手続きを通して、例えば、ヒトとフグといった比較的遠縁な種間においても、遺伝子のエクソン以外の保存領域がゲノム上に多数存在していることが明らかになってきた。また、種内比較によって、高等真核生物ゲノムは、セントロメアやテロメア近傍においておびただしい数のゲノム内重複を蓄積しており、その他でも多くの領域重複が見出され、反復配列以外にも多くの冗長な構造を高等真核生物ゲノムが内包していることが明らかになった。これらの重複構造は、高等真核生物の複雑な構造形成にとって必要であったと考えられるので、重複構造の進化様式を探ることにより、個体発生機構の解明が進められる可能性が示唆された。

2001年度において、ヒトやマウスを含む様々な真核生物と原核生物のゲノムDNA配列データを国際データベースなどから定期的に収集し、ヒトゲノムを中心に種内・種間の大規模比較解析を行った。その結果、ヒトゲノム内におびただしい数の重複領域が見出され、その分布はランダムではなく、例えば、セントロメア近傍領域に集中して見られるといった様々な特徴が明らかになった。このような特徴は、核内における染色体の局在性や染色体間の位置関係などについての示唆を与えている。また、ヒトゲノム配列内に存在するヒト固有遺伝情報を発見するために、ヒトの最近縁種であるチンパンジーのゲノム配列決定の第一段階としてチンパンジーBACクローンマッピングを行った(Fujiyama, Watanabe, et al., 2002)。このマッピングでは、64,116個のチンパンジーBACクロンの両端配列 (BES)のみを決め、その配列をヒトゲノム配列と比較することによって、各チンパンジーBACクロンの物理位置を正確に推定するという、これまでに無い独自の方法を開発し応用した。このマッピングの結果から、ヒトゲノムとチンパンジーゲノムとの間にこれまで知られていたものも含む多くの大規模な構造の違いが見出され、また、BESの詳細な比較解析とPCRを用いた実験的ゲノム解析の結果から、ヒトゲノム内の変わりやすい領域、高度に保存している領域、ヒト固有領域を見出すことが出来た。このマッピングの結果を利用することでチンパンジーゲノム配列を決定するのに必要な最少のクローンを選別することが可能になり、より網羅的なヒト固有遺伝情報の探索の基礎が築かれた。また、ヒトを含む多様な生物種のゲノムの比較解析を行うことにより、生物の進化史に関する網羅的情報を引き出すことを試みた結果、真核生物の起源に関する新しい知見を得る事が出来、新説を発表した(Hedges et al., 2002)。

Table 1. Summary of BES readings and mapping.

		Number of BAC clones*	Number of BESs
Sequenced Mapped		64,116	114,421†
		52,881	77,461‡
	Paired ends§	24,580	49,160
Unmapped	Singletons	28,301	28,301
			36,960
	Repeats		1,168
	Human¶		20,376
	Nonhuman		515
	No hit		14,901

*These clones were selected from the PTB1 or RPCI-43 chimpanzee male BAC libraries, and both ends of the inserts were sequenced (53,240 BESs from PTB1 and 24,221 BESs from RPCI-43 are mapped). †Number of total BESs. ‡Number of mapped BESs. §Number of mapped BESs derived from the same BAC clone. Long BES pairs (>300 kb) were not used for the mapping. ||Number of the singleton (lone) BESs mapped on the human genome sequence. ¶Contains hits to sequences not included in the NCBI contigs or hits to mRNAs only.

2002年度において、2つの研究を具体的に行った。ツエツエバエの細胞内共生微生物であるWigglesworthia glossinidiaのゲノムを他の共同研究者と共に決定し、そのゲノム配列を、本研究代表者らが既に決定し報告してあったアブラムシの細胞内共生微生物であるBuchnera APSのゲノム配列(Shigenobu, et al., 2000)と比較し、共生微生物の進化過程についての様々な情報を得た(Akman, et al., 2002)。Buchneraのゲノムは、共生生物としては世界で初めて配列決定されたものであったため、その解析によって明らかになった様々な特徴が共生生物の特徴であると我々は考えていた。しかし、系統的にBuchneraに極めて近い関係にあると考えられているWigglesworthiaのゲノムと比較してみた結果、予想に反して、多くの相違点が明らかになった。例えば、これら2つのゲノムは最も小さい部類に属しているため、その中に存在する遺伝子は生存にとって必要不可欠なものに限られているであろうと考えられていたが、実際には、2者に共通している遺伝子は僅かに7割弱であった。この事実は、生物は一定の生活環境に置かれると、その環境に適応するかたちで短期間のうちにゲノムの中身が大きく変わり、共生生物の場合は多くの遺伝子を失うが、失われる遺伝子の種類は互いに大きく異なりうることを示している。現在、近縁微生物を含む他生物のゲノムとの比較解析を通して、これら細胞内共生細菌の最終共通祖先のゲノム構造を推定し、それがどのような性質を持つ生物であり、どのように変化して、BuchneraやWigglesworthiaになったのかを詳細に記述するための解析を進めている。

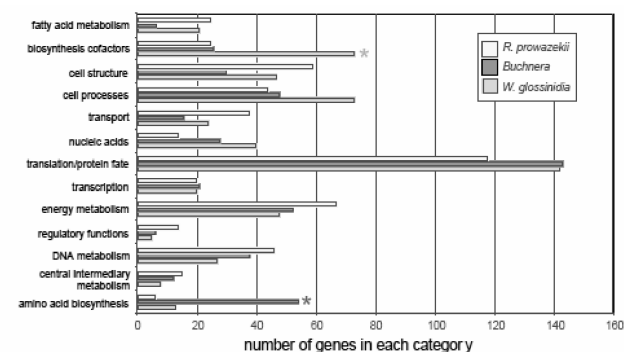


Fig. 4 Comparative analysis of the number of genes present in each functional category described in the genomes of *W. glossinidia*, *Buchnera* and *R. prowazekii*. The asterisks denote categories for which genes are present in higher numbers in one genome relative to the other two genomes analyzed (the biosynthesis of cofactors in *W. glossinidia* genome and the amino-acid biosynthesis in *Buchnera* genome).

もう1つの研究は、チンパンジー22番染色体 (PTR22)の高精度配列の決定とそのヒトゲノム配列との詳細な比較解析である。2003年頭にPTR22長腕の高精度配列(約34メガ塩基対)の決定をほぼ完了し、対応するヒト21番染色体(HSA21)長腕の高精度配列と比較している。我々は前年度に実施したチンパンジーゲノムBACクロンのヒトゲノムへのマッピングに関する研究において、チン

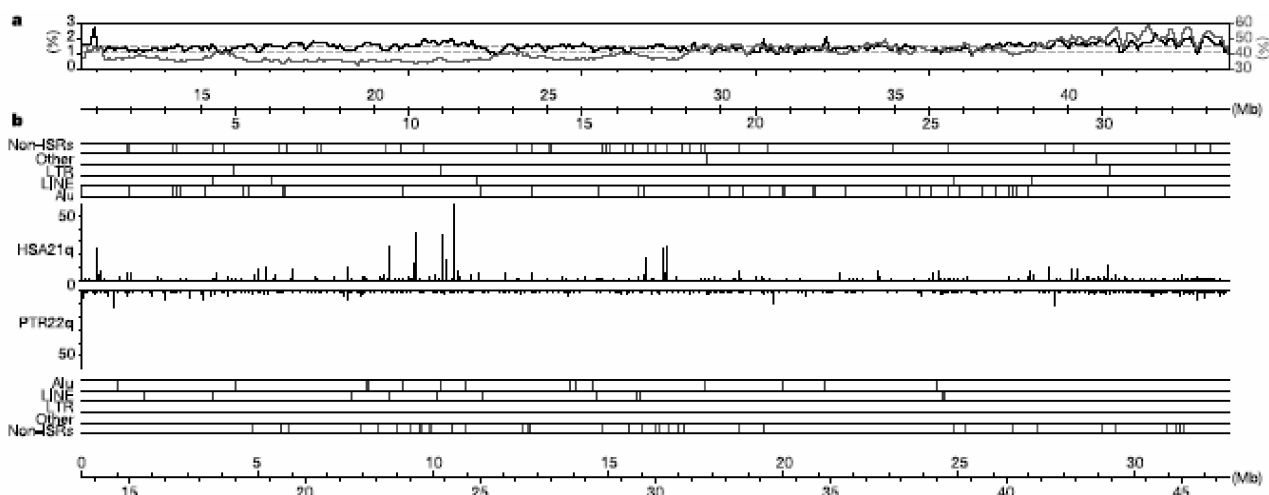


Figure 1 Overview of the differences between HSA21q and PTR22q. **a**, Nucleotide divergence level between HSA21q and PTR22q (bin size = 100 kb) is shown in black and G+C content (%) is in red. Dashed black and red lines indicate average values for divergence level and G+C content, respectively. Abscissa origin is the centromere-euchromatin boundary position in HSA21q (11,000,001 bp) and the scale is in megabases. **b**, *In silico* D-loop (a computer simulation of a hypothetical hybridization experiment using two chromosomal DNAs). The top half represents HSA21q and the

bottom half represents PTR22q. Each hypothetical loop-out (regions of DNA that do not hybridize each other) is shown as a vertical line. The y-axis indicates size of loop-outs (kb). Positions of experimentally verified lineage-specific insertions (blue) and deletions (red) are shown in five lanes along the chromosomes. The lanes, from inside to outside, represent the content of the indels: Alu elements, LINEs, LTRs, other ISRs (Other) and non-ISRs. The scale bar indicates the physical position in megabases relative to the telomere of the short arm (outside track) and to the centromere (inside track).

パンジーゲノムとヒトゲノムの塩基配列が平均で1.23%だけ異なっていることを発表した(Fujiyama, Watanabe, et al., 2002)、長大な染色体配列全体を比較した結果、塩基置換以外に大きな構造変化を多数発見した。例えば、ヒトに存在する10キロ塩基対に達する配列がチンパンジーには存在しないといった例を見つけた。

2003年度において、日独中韓台の9センターからなるチンパンジー22番染色体配列決定国際コンソーシアムにおいて、類人猿あるいは霊長類の染色体としては世界で初めてPTR22の完成配列を完全に決定し、そのヒト相同染色体であるHSA21との間で種間比較を行った。本研究の目的は、ヒトとチンパンジーの染色体塩基配列を比較することによって、約500~700万年前に両種が分岐した後に、それぞれの系統において生じてきたゲノムの構造変化の詳細を明らかにすることである。両ゲノムは塩基配列レベルでは僅かに1.23%程度しか異なっていないことを同コンソーシアムが先行研究 (Fujiyama et al., 2002) で明らかにしていたため、概要配列ではなく高精度の完成配列の形でチンパンジーゲノム配列の決定を行うことが必要であると考えられた。しかし、そのためには膨大な作業が必要になるため、まず染色体レベルでの解析を行うことにし、同様のメンバーで構成された国際コンソーシアムによってその完成配列が決定されたHSA21 (Hattori et al., 2000) の相同染色体を解析の対象に選んだ。配列決定の結果、(1)PTR22はHSA21よりも約1%小さい、(2)多くの挿入・欠失(INDEL)が存在し、短いものほど頻度が高い、(3)300bp以上の長さの挿入は、大部分が散在性反復配列の挿入によるものである、(4)HSA21、PTR22それぞれで固有の偽遺伝子の挿入が見られる、(5)たんぱく質をコードしている遺伝子の83%でアミノ酸置換が起きている、(6)インターフェロン α および γ 受容体などの免疫系遺伝子において、転写レベルでの発現にHSA21とPTR22の間で有意に異なっている、といったことが明らかになった。これらの比較結果から、ヒトとチンパンジーの間には多くの相違が存在し、将来、表現型に対応するヒト固有遺伝情報が発見される可能性が高いと考えられる。

2004年度において、上記のPTR22完成配列に関する研究を、Nature誌のArticleとして発表した(Watanabe, et al.,

2004)。この論文において本研究代表者は比較解析全般を担当し、ヒト相同染色体であるHSA21および他の類人猿との間で種間比較解析を行った。本研究の目的は、500-700万年前にヒトとチンパンジーが分岐した後に、それぞれの系統において生じてきたゲノムの構造変化の詳細を明らかにすることである。同コンソーシアムによる先行研究 (Fujiyama et al., 2002) において両ゲノムは塩基配列レベルで平均1.23%の塩基置換が起きていることを明らかにしていたが、PTR22-HSA21間では若干高い1.44%の平均塩基置換率になっていた。これは主としてテロメア側半分ではGC含量が高くCpGのメチル化脱アミノ化による塩基置換(C:G→T:A)が高頻度で起きていることによることがわかった。また、挿入はHSA21で高頻度で起きている一方、欠失は両染色体で完全に同じ傾向をしめしていること、AluはG+C率の高い領域に多く挿入すると考えられていたが、PTR22では逆に低い領域に挿入が多く見られること、たんぱく質をコードしている遺伝子の83%でアミノ酸置換が起きているうちの23%は単純なアミノ酸置換ではない大規模な変化によるものであること等も新たに明らかにした。他に、ヒトゲノムプロジェクトを締めくくるヒトゲノム真正クロマチン部分の完成配列の決定完了をコンソーシアムとしてNature誌で報告した。

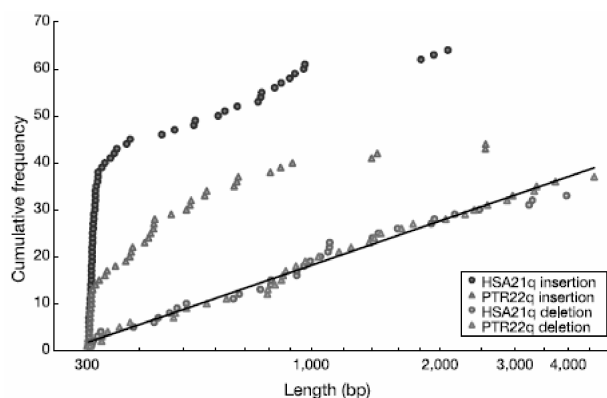


Figure 3 Size-dependency of indel frequency. Cumulative counts of experimentally determined lineage-specific insertions and deletions. The x-axis represents the log-scaled size of indels (bp), whereas the y-axis represents the cumulative counts of lineage-specific insertions and deletions.

〈国内外での成果の位置づけ〉

2001年度に行ったチンパンジー-BACクローンマッピング結果の発表は、世界中のゲノム、進化、人類などに関する研究者から大きな反響を呼び、様々な共同研究の申し込みが来た。このことから明らかに、チンパンジーゲノム配列を決め、そのヒトゲノムとの比較からヒトの進化とヒトゲノムが持つ固有の機能についての情報が得られることが広く世界中の研究者に認識されるようになった。また、真核生物の起源についての新説の発表により、新たな議論が行われるようになった。

2002年度における双方向絶対共生にかかわる生物が備えている遺伝形質の実体を世界で初めて明らかにした。その結果、Buchneraのゲノム解析からは、宿主との間の見事なほど明確で大域的な相補性が明らかにされたが、Wigglesworthiaのゲノム解析を加えた結果、そのような明確な相補性が見られず、例えば葉酸などの鍵となる物質への依存と供給といった限定的な相補性だけで成り立ち得ることが示され、大域的相補性は双方向絶対共生の本質的ではないことが示唆された。Wigglesworthiaの論文は、Nature Geneticsの同じ号のNews & Views (Nat. Genet., 32:335-336, 2002)で取り上げられたことから、この研究の重要性が認められていることがわかる。Wigglesworthia は、眠り病の原因病原体トリパノソーマの媒介宿主であるツエツエバエの生存にとって不可欠なツエツエバエの細胞内絶対共生細菌である。したがって、その宿主との間の絶対依存関係の実体を明らかにすることができれば、ツエツエバエとこの共生生物の双方の弱点を知ることができ、決定的眠り病対策を講じることが可能になると考えられるため、この研究は、経済的にも大変重要であると考えられている。

また、2003年度から2004年度にかけて行ったヒト以外の類人猿の染色体配列を高精度で決定することも、ヒトという生物を遺伝的形質に基づいて理解するために必要不可欠であり、それを、世界で初めて成し遂げることが出来たことは意義深い。この成果は、ヒトゲノム研究への大きな貢献となるであろう。実際、本研究が発表された後、本研究に類する類人猿ゲノム解析が多数発表されるようになった。例えば、アメリカとイギリスのグループが中心となってチンパンジーゲノム概要配列を決定し、ヒトゲノムとの間で詳細な比較解析を行っている(The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium. Nature, 437:69-87, 2005)。また、ヒトのハプロタイプ解析やSNPs解析などでも、ヒト集団の最適な外群としてチンパンジーゲノム配列が多用されている(The International HapMap Consortium. Nature, 437:1299-1320, 2005)。本研究者が係わった研究がきっかけとなった、このヒトゲノム解析における新たな大きな流れは今後も続き、その成果として、近い将来、我々はヒトについての深い生物学的理解を得ることができることが期待できる。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

統合ゲノムの研究期間中に、実験によるヒト固有遺伝情報が持つ機能に関する推定や実験的解析を十分に行うことができなかった。その主な理由は、時間的な制約によるものであったが、ゲノム比較解析のための方法の開発が十分に進まなかったことも一因である。開発すべき最も重要な方法の一つがゲノムアラインメント法である。ゲノムアラインメントは、ゲノムの直系領域間で局所アラインメントを作る必要がある。そのためには、任意のゲノム領域間での分子系統解析が必要不可欠であり、計算量と必要メモリー量の爆発が起きる。この問題を解決

することが当初の予想よりもはるかに難しいことが研究過程で明らかになった。ゲノムアラインメントのための新しい方法の開発は本研究課題終了後も続けている。統合ゲノムの研究期間においては、擬似的ゲノムアラインメントを作成し、手作業によってゲノムアラインメントの形にしたが、多くの労力と時間を割く必要があった。実験的解析に関しては、実験環境の整備と、実験生物学者との連携が必要であるが、研究期間内に完了することが出来なかった。研究期間終了後も引き続き実験的解析のための体制作りを進めている。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Satta Y, Hickerson M, Watanabe H, O'hUigin C, Klein J. (2004) Ancestral Population Sizes and Species Divergence Times in the Primate Lineage on the Basis of Intron and BAC End Sequences. J. Mol. Evol., 59, 478-487.
2. International Human Genome Sequencing Consortium (Sakaki Y, (他6名), Watanabe H, (他59) for the RIKEN part). (2004) Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature, 431, 931-945. [0502212126]
3. Watanabe H, Fujiyama A, Hattori M, Taylor T.D, Toyoda A, Kuroki Y, Noguchi H, BenKahla A, Lehrach H, Sudbrak R, Kube M, Taenzer S, Galgoczy P, Platzer M, Scharfe M, Nordsiek G, Blöcker H, Hellmann I, Khaitovich P, Pääbo S, Reinhardt R, Zheng H.-J, Zhang X.-L, Zhu G.-F, Wang B.-F, Fu G, Ren S.-X, Zhao G.-P, Chen Z, Lee Y.-S, Cheong J.-E, Choi S.-H, Wu K.-M, Liu T.-T, Hsiao K.-J, Tsai S.-F, Kim C.-G, Oota S, Kitano T, Kohara Y, Saitou N, Park H.-S, Wang S.-Y, Yaspo M.-L & Sakaki Y. (2004) DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. Nature, 429, 382-388. [0407081936]
4. Yamada Y, Watanabe H, Miura F, Soejima H, Uchiyama M, Iwasaka T, Mukai T, Sakaki Y, Ito T. (2004) A Comprehensive Analysis of Allelic Methylation Status of CpG Islands on Human Chromosome 21q. Genome Res., 14, 247-266.
5. Akman L, Yamashita A, Watanabe H, Oshima K, Shiba T, Hattori M, Aksoy S. (2002) Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, Wigglesworthia glossinidia. Nat. Genet., 32, 402-407. [0210050243]
6. Fujiyama A, Watanabe H, Toyoda A, Taylor TD, Itoh T, Tsai S-F, Park H-S, Yaspo M-L, Lehrach H, Chen Z, Fu G, Saitou N, Osoegawa K, de Jong PJ, Suto Y, Hattori M, and Sakaki Y. (2002) Construction and analysis of a human-chimpanzee comparative clone map. Science, 295, 131-134. [0203032300]
7. Shigenobu S, Watanabe H, Sakaki Y, Ishikawa H. (2001) Accumulation of species-specific amino acid replacements that cause loss of particular protein functions in Buchnera, an endocellular bacterial symbiont. J. Mol. Evol., 53, 377-86.
8. Hedges SB, Chen H, Kumar S, Wang DY-C, Thompson AS, Watanabe H. (2001) A genomic timescale for the origin of eukaryotes. BMC Evol. Biol., 1, 4.
9. Sato T, Terabe M, Watanabe H, Gojobori T, Hori-Takemoto C, Miura K. (2001) Codon and Base Biases after the Initiation Codon of the Open Reading Frames in the Escherichia coli Genome and Their Influence on the

- Translation Efficiency. *J. Biochem. (Tokyo)*, 129, 851-860.
10. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczky J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrim J, Mesirov JP, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Grafham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin JC, Mungall A, Plumb R, Ross M, Shownkeen R, Sims S, Waterston RH, Wilson RK, Hillier LW, McPherson JD, Marra MA, Mardis ER, Fulton LA, Chinwalla AT, Pepin KH, Gish WR, Chissole SL, Wendl MC, Delehaunty KD, Miner TL, Delehaunty A, Kramer JB, Cook LL, Fulton RS, Johnson DL, Minx PJ, Clifton SW, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng JF, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs RA, Muzny DM, Scherer SE, Bouck JB, Sodergren EJ, Worley KC, Rives CM, Gorrell JH, Metzker ML, Naylor SL, Kucherlapati RS, Nelson DL, Weinstock GM, Sakaki Y, Fujiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissenbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Brottier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith DR, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee HM, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis RW, Federspiel NA, Abola AP, Proctor MJ, Myers RM, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox DR, Olson MV, Kaul R, Raymond C, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans GA, Athanasiou M, Schultz R, Roe BA, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie WR, de la Bastide M, Dedhia N, Blocker H, Hornischer K, Nordsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey JA, Bateman A, Batzoglu S, Birney E, Bork P, Brown DG, Burge CB, Cerutti L, Chen HC, Church D, Clamp M, Copley RR, Doerks T, Eddy SR, Eichler EE, Furey TS, Galagan J, Gilbert JG, Harmon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hermjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson LS, Jones TA, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent WJ, Kitts P, Koonin EV, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe TM, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran JV, Mulder N, Pollara VJ, Ponting CP, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit AF, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf YI, Wolfe KH, Yang SP, Yeh RF, Collins F, Guyer MS, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand KA, Patrinos A, Morgan MJ; International Human Genome Sequencing Consortium. (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409, 860-921. [0111220127]
 11. Sakaki Y, Watanabe H, Taylor T, Hattori M, Fujiyama A, Toyoda A, Kuroki Y, Itoh T, Saitou N, Oota S, Kim CG, Kitano T, Lehrach H, Yaspo ML, Sudbrak R, Kahla A, Reinhardt R, Kube M, Platzer M, Taenzer S, Galgoczy P, Kel A, Bloecker H, Scharfe M, Nordsiek G, Hellmann I, Khaitovich P, Paabo S, Chen Z, Wang SY, Ren SX, Zhang XL, Zheng HJ, Zhu GF, Wang BF, Zhao GP, Tsai SF, Wu K, Liu TT, Hsiao KJ, Park HS, Lee YS, Cheong JE, Choi SH. (2003) Human versus chimpanzee chromosome-wide sequence comparison and its evolutionary implication. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, 68, 455-460. [0502212054]
 12. Watanabe H. (2003) Introduction to comparative genomics. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 48, 849-856.
 13. 吉村康秀, 安永照雄, 後藤直久, 渡邊日出海. (2002) 哺乳動物の精巣及び脳・神経系において共通に発現を示す遺伝子群データベース. <http://dtbcog.gen-info.osaka-u.ac.jp/> [0301250950]
 14. Watanabe H, Fujiyama A, Hattori M, and Sakaki Y. (2002) Construction and analysis of a human-chimpanzee comparative clone map. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 47, 808-813. [0305161750]
 15. Toyoda A, Hattori M, Park HS, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, Totoki Y, Fujiyama A, Sakaki Y, Reeves R. (2001) Sequencing and comparative analysis of 1.5 Mb of Down syndrome critical region in human chromosome 21 and mouse chromosome 16. *Cytogenet. Cell Genet.*, 92, 21.
 16. Sakaki Y, Hattori M, Fujiyama A, Toyoda A, Taylor TD, Watanabe H, Yada T, Park HS, Totoki Y, Reeves R. (2001) DNA sequence and comparative genomics of human chromosome 21. *Cytogenet. Cell Genet.*, 92, 19-20.
 17. 渡邊日出海 (2004) ヒト化のゲノム論 — チンパンジーとヒトの比較ゲノム. *科学*, 74, 1220-1226.
 18. Watanabe H. (2004) An analysis of the chimpanzee genome. *Molecular Medicine*, 41, 146-153. (publication on May 31, 2004; 410pp)
 19. Watanabe H. (2003) Comparative genomics of the human genome with primate genomes. *Genome Medicine*, 3, 661-667.
 20. Watanabe H. (2003) Introduction to comparative genomics. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 48, 849-856.
 21. Watanabe H, Fujiyama A, Hattori M, and Sakaki Y. (2002) Construction and analysis of a human-chimpanzee comparative clone map. *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, 47, 808-813.
 22. Watanabe, H. (2001) Information processing and evolutionary biology for genome analyses. *ESTRELA*, 88, 18-23.
 23. Watanabe, H. Translation of the 6th section of "Bioinformatics - Sequence and Genome Analysis by David W. Mount, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York," pp 244-287, Medical Science International, Tokyo, 2002.