

刺胞動物を用いた概日リズム・睡眠研究

金谷 啓之¹、伊藤 太一²✉

1 東京大学 大学院医学系研究科 システムズ薬理学教室、2 九州大学 基幹教育院

サンゴやクラゲ、イソギンチャクなどの刺胞動物は、動物の進化の過程で7億年以上前に他の動物と分岐した動物群である。内胚葉層と外胚葉層の二つの細胞層のみから構成される特異な体壁構造を有し、中枢のない簡素な神経系を備える。他の生物と同様、刺胞動物においても遺伝子発現レベル、および行動レベルの概日リズムが存在し、さらに近年になり、刺胞動物も睡眠様状態を示すことが報告された。刺胞動物における睡眠の分子制御機構の一端が明らかになり、ショウジョウバエやマウスとの共通性・特異性が示されている。本稿では、刺胞動物における概日リズムと睡眠の研究の現状と課題、および今後の方向性について議論する。

1. はじめに

刺胞動物は、多細胞動物の進化において、その起源に近いところで分岐した動物群である(図1)。多細胞動物の進化を議論する上で重要な系統位置にあることから、進化発生生物学等の分野で注目されている¹。同じく原始的な多細胞動物である海綿動物や平板動物が、明瞭な体軸や機能的に分化した組織を持たないのに対し、刺胞動物は口・反口方向の体軸を形成し、消化管や神経網を有する。

近年、刺胞動物の概日リズムや睡眠について、複数の報告がある。他の生物と同様、刺胞動物も時計遺伝子を有し、その行動や遺伝子発現に概日性が観察される。刺胞動物は、動物の概日リズムの進化的変遷を考

える上で、有用なモデルとなる可能性がある。概日リズムと密接に関連する睡眠は、哺乳類を含む脊椎動物に限らず、ショウジョウバエや線虫などの無脊椎動物にも存在する²⁻⁴。近年、刺胞動物であるサカサクラゲ(*Cassiopea*)⁵やヒドラ(*Hydra*)⁶も、睡眠様状態を示すことが明らかになった。中枢のない未分化な神経網を有する刺胞動物にも睡眠が存在することは、睡眠が中枢神経系で生じる現象であるとの概念を覆す。シンプルな神経系を有する動物の睡眠機構の解明により、睡眠調節機構の本質が導き出されることが期待される。本稿では、刺胞動物の特徴について概説した後、その概日リズムや睡眠の研究の現状についてまとめ、さらにその課題と今後の方向性について議論する。

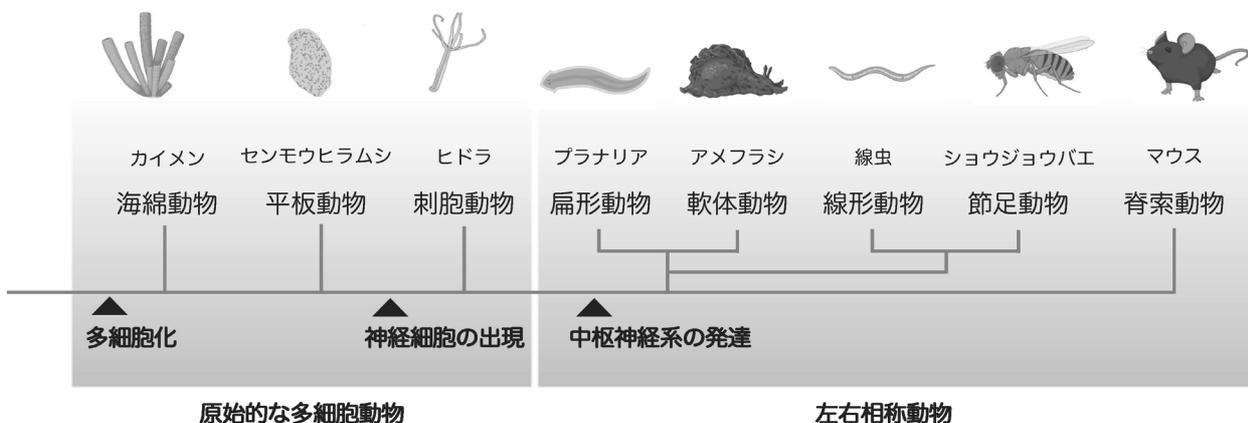


図1 多細胞動物の進化

✉ taichi.itoh@kyudai.jp

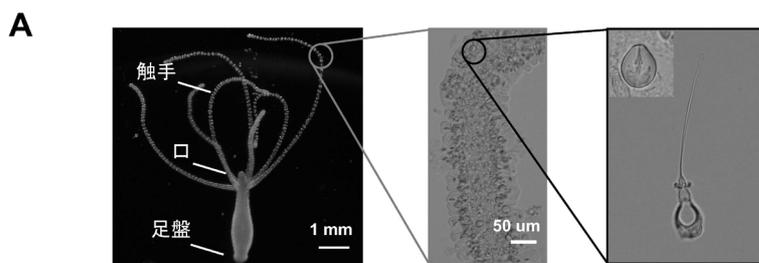
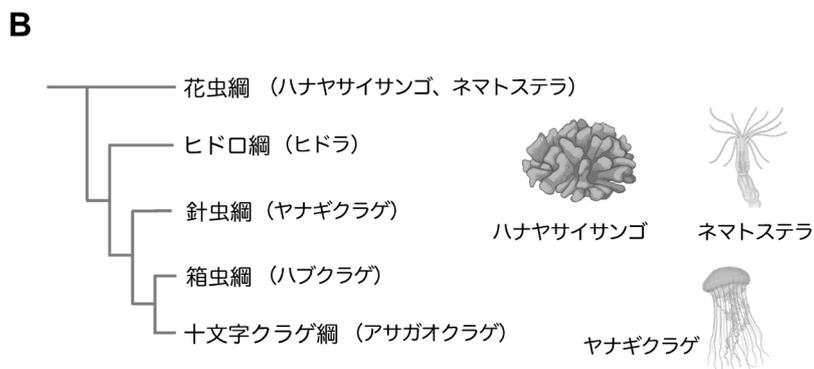


図2 刺胞動物

(A) ヒドラ(*Hydra*)の体制。触手には刺胞細胞が高密度に配置されている。刺胞は刺激に応じて発射され、突起する。

(B) 刺胞動物の系統分類。刺胞動物は5つのサブグループに分類される。



2. 刺胞動物

刺胞動物はその名の通り、「刺胞」を有する動物である。刺胞は、高度に特殊化した細胞内構造であり、一般に接触刺激に応じて発射される。刺胞動物の体には、刺胞を備えた刺胞細胞が散在している。とりわけ触手には、刺胞細胞が高密度に配置され、餌に貫通させることで捕食に役立てられる(図2A)。

刺胞動物は、これまでに記載されているものでも10,000種を超え、その生態と生活環境は実に多様である。刺胞動物は、花虫綱(Anthozoa)、ヒドロ虫綱(Hydrozoa)、鉢虫綱(Scyphozoa)、箱虫綱(Cubozoa)、十文字クラゲ綱(Staurozoa)の5つの分類群に区分される(図2B)。花虫綱はサンゴやイソギンチャクの仲間を指し、その他の分類群の動物は、一般にクラゲと呼ばれているものである。刺胞動物は、そのほとんどが海棲であり、淡水棲のものはヒドラ(図2A)をはじめとするヒドロ虫綱の動物の一部に限られる。生殖様式は様々であり、有性生殖を行う種類と無性生殖を行う種類、その両方を切り替える種類がいる。

刺胞動物は、内胚葉層と外胚葉層の二つの細胞層のみから構成されるシンプルな体壁構造を持つ。さらにヒドラをはじめとする一部の刺胞動物は、体のごく一部からでも、体全身を再生させる極めて強力な再生能力を持ち、発生生物学や再生生物学のモデルとして注目されてきた⁷。またヒドラや、同じくヒドロ虫綱のベニクラゲは、不老不死の動物としても知られ、近年では老化研究の材料としても注目されている^{8,9}。

刺胞動物の特徴としてさらに特筆すべきは、中枢のない未分化な神経網を持つことである。刺胞動物の神経網は体中に一様性に分布し、例えばヒドラでは口と足盤の周囲(図2A)に若干の高密度化が見られるのみである。こうした刺胞動物の神経系は、散在神経系と呼ばれている。刺胞動物よりも、さらに進化的起源の古い海綿動物や平板動物(図1)が神経細胞を持たないことを鑑みると、刺胞動物の散在神経系は、中枢神経系が進化的に生じる以前のシステムを保持した最も原始的な神経系だと言える。近年では、ヒドラや同じくヒドロ虫綱の*Clytia*の神経細胞に、GECI(genetically encoded calcium indicator)を発現させることで、散在神経系の機能の解析が進んでいる¹⁰⁻¹²。

3. 刺胞動物の概日リズム

刺胞動物の概日リズムに関しては、クラゲ類の遊泳パターンや海面・海中の垂直移動等を指標に、古くから複数の報告がある^{13,14}。しかしながら、明暗サイクル下での日内変動の解析に終始しており、恒明/恒暗条件下でのフリーランリズムに関する報告はほとんど無かった。2011年に、サンゴの一種である*Acropora*の時刻依存的な遺伝子発現解析が報告され、フリーラン条件下でも発現が周期変動する遺伝子の存在が明らかになった^{15,16}。また、イソギンチャクの仲間、実験室に馴化したモデル動物であるネマトステラ(*Nematostella*)(図2B)においては、その行動のトラッキングから、恒暗条件下でも観察されるフリーランリズムが存在することが分かった^{17,18}。ネマトステ

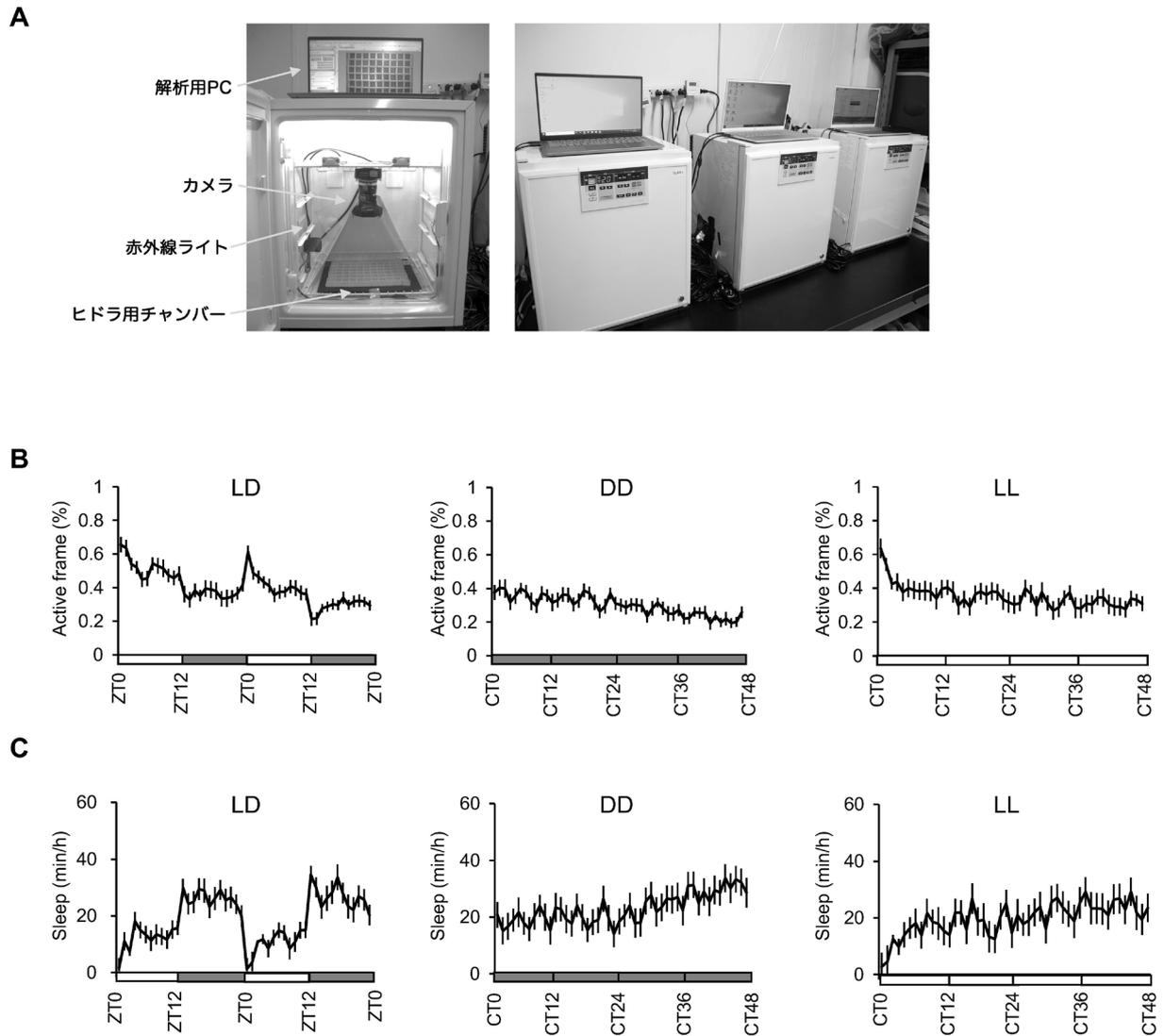


図3 ヒドラの行動の概日性と睡眠

(A) ヒドラの行動解析システム。ヒドラを小型チャンバーに入れて赤外線ライトで照らし、タイムラプス撮影を行う。ヒドラは赤外光に対し非感受性であり、疑似的な暗条件を作り出すことが可能である。明条件では、別に設けた可視光線ライトを点灯する。比較的安価な装置でセットアップ可能であり、複数の撮影システムを設けることで多個体・多条件の並列撮影が可能である。

(B) 明暗サイクル (LD)・恒暗条件 (DD)・恒明条件 (LL) におけるヒドラの行動量変化。5 秒毎に取得した画像のフレーム間差分解析により、ヒドラの動きが検出されたフレームの割合を示す。平均±標準誤差。ZT, zeitgeber time; CT, circadian time。文献 19 より改変転載。

(C) 明暗サイクル (LD)・恒暗条件 (DD)・恒明条件 (LL) におけるヒドラの睡眠パターン。平均±標準誤差。文献 6 より改変転載。

ラでは、遺伝子発現解析でも同様に、概日振動が検出された¹⁸。ネマトステラのゲノム上には、*Clock* や *Cycle/Bmal*、*Cryptochrome* の相同遺伝子が存在している。興味深いことに *Period* の相同遺伝子は存在しないが、*Clock* と *Cryptochrome* で周期的な遺伝子発現変動が見られること¹⁸、CLOCK-CYCLE ヘテロダイマーの形成が確認されていることから¹⁹、転写翻訳フィードバックループの存在が示唆される²⁰。

我々のグループでは、ヒドロ虫綱のヒドラの行動をハイスループットに解析するための装置を開発し、長時間にわたる行動解析を行った²¹ (図 3A)。ヒドラの行動を 5 秒毎にタイムラプス撮影し、そのフレーム

間差分を解析することで、行動を定量化するものである。解析の結果、ヒドラは明暗サイクルに応じた行動の日内変動を示すものの、恒明/恒暗条件下でのフリーランリズムは観察されなかった (図 3B)。また、ヒドラが周期的に繰り返す体の収縮に着目した解析でも、その頻度に明暗サイクルに応じた変化が観察されたが、フリーランリズムは検出されなかった。興味深いことに、ヒドラのゲノム上には、*Clock*、*Cycle/Bmal* を含めた時計遺伝子が存在しない²²。一方で、ヒドラと同じヒドロ虫綱の *Clytia* のゲノム上にはこれらの時計遺伝子が存在することから、進化の過程で、ヒドラ特異的

	サカサクラゲ	ヒドラ	線虫	ショウジョウバエ	ゼブラフィッシュ	マウス
可逆的な行動静止	+	+	+	+	+	+
反応性の低下	+	+	+	+	+	+
睡眠恒常性	+	+	+	+	+	+
概日制御	+	-	-	+	+	+
異なる睡眠相*	-	-	-	-	+	+

表 1 各動物の睡眠の特徴

*異なる睡眠相とは、レム睡眠やノンレム睡眠等の違いを指す。

に時計遺伝子の二次損失 (secondary loss) が生じたことと推定される²²。

4. 刺胞動物の睡眠

睡眠は、動物全般で広く観察される現象である。脳波 (electroencephalography, EEG) と筋電図 (electromyography EMG) の測定により定義されるノンレム睡眠とレム睡眠は、哺乳類や魚類のゼブラフィッシュなど、脊椎動物全般で観察される²³ (表 1)。また最近では、タコやクモなどの一部の無脊椎動物でもレム睡眠様状態の存在が確認されている^{24,25}。これに加え、「可逆的な行動静止」、「反応性の低下」、「睡眠恒常性」をはじめとした行動学的指標によって定義される睡眠は、ショウジョウバエや線虫等の無脊椎動物で報告されてきた²⁴ (表 1)。ショウジョウバエや線虫には行動が静止する不動状態が生じることがあり、外部からの刺激によって覚醒状態へ回復可能である (「可逆的な行動静止」)。不動状態では、覚醒状態に比べて刺激に対する反応が低下し、覚醒へ転じさせるにはより強い刺激が必要である (「反応性の低下」あるいは「覚醒閾値 (arousal threshold) の上昇」)。また、不動状態は恒常的に制御され、断眠処理をすることで、不足した分を補うようにして回復睡眠 (rebound sleep) が生じる (「睡眠恒常性」)。ショウジョウバエでは 5 分以上の不動状態が、線虫では lethargus と呼ばれる脱皮直前に示す不動状態や外界からのストレスにより引き起こされる不動状態が、睡眠に相当すると考えられている。ショウジョウバエや線虫を用いた睡眠の分子遺伝学的研究が展開され、睡眠制御の分子機構・神経機構の解明が進んできた。

2017 年に、刺胞動物鉢虫綱のサカサクラゲ (*Cassiopea*) に睡眠様状態が存在することが報告された⁵。サカサクラゲは、おおむね 1 秒間に 1 回の頻度で、傘の収縮を繰り返す。この収縮パルスの頻度に着目して解析したところ、昼間 (明期) に比べて夜間 (暗期) に収縮頻度が低下することが分かった。この収縮

頻度の低下は「反応性の低下」を伴う。さらには、収縮頻度が低下する暗期に刺激を与えて強制的にパルス頻度を上昇させると、続く明期にパルス頻度が低下し、その後回復することから、恒常性を伴う現象であることが示された。サカサクラゲのパルス頻度の変化は恒暗条件下でも観察されることから、概日制御を受けると考えられる (表 1)。

2020 年には我々のグループが、ヒドロ虫綱のヒドラの睡眠様現象を報告した⁶。先述のフレーム間差分にもとづく解析から、行動が静止する不動状態が見出され、とりわけ 20 分以上の不動が、餌や機械刺激に対する反応性の低下を伴うことから、睡眠に相当すると考えられた。機械刺激や高温処理によりヒドラの睡眠を阻害したところ、その後に回復睡眠が観察され、睡眠恒常性が確認された。ヒドラの睡眠において特徴的なのは、概日性が見られないことである。明暗サイクルに応じて睡眠量に変化するが、恒明/恒暗条件下では、一日を通じて睡眠量に大きな変化が見られなかった (図 3C) (表 1)。ヒドラの行動自体に概日性が無いことから考えると当然だが、睡眠現象と概日リズムが分離可能であると解釈することもできる。また、ヒドラに対し断眠処理を行うことで、細胞増殖が顕著に阻害された。刺胞動物においても、睡眠が動物個体の維持・成長に関与していることが示唆される。

5. 刺胞動物における睡眠の分子機構

刺胞動物は、これまでに睡眠の存在が報告された動物の中で、最も進化的起源の古い動物である。原始的で単純な神経系を有する刺胞動物の睡眠機構を解明することで、睡眠の本質が明らかになることが期待される。サカサクラゲの睡眠とヒドラの睡眠は、いずれもメラトニンの投与により促進されることが報告された^{5,6} (表 2)。メラトニンは、刺胞動物の一種であるネマトステラにおいても、光環境に応じて合成が制御されることが知られている²⁶。メラトニンを介した睡眠調節機構は、刺胞動物全般で保存されている可能性が

	サカサクラゲ	ヒドラ	線虫	ショウジョウバエ	ゼブラフィッシュ	マウス
Melatonin	●	●	●	-	●	●
GABA	-	●	●	●	●	●
Dopamine	-	●	○	○	○	○
PRKG1	-	●	●	●	-	●
Ornithine	-	○	-	●	-	-

表2 各動物の睡眠調節性分子機構の保存性

●: 睡眠促進作用, ○: 覚醒促進作用, -: これまでに報告がない/明確な作用がない.
GABA, gamma-aminobutyric acid; PRKG1, cGMP-dependent protein kinase 1.

ある。その他、ヒドラでは、GABA やドパミンの投与による睡眠長の変化が観察され、GABA 作動性・ドパミン作動性の神経システムの進化的保存性が示唆された (表 2)。

また、ゲノムワイドな遺伝子発現解析により、ヒドラを 6 時間にわたって断眠させることで、200 個強の遺伝子の発現変動が検出された。発現が変動した遺伝子には、これまでに他の動物で睡眠制御との関連が示唆されていた cGMP-dependent protein kinase 1 (PRKG1)^{4,27,28} や voltage-gated potassium channel *shaker*²⁹ の相同遺伝子が含まれていた。阻害剤を用いた実験から、他の動物で見られる PRKG1 の睡眠促進作用は、ヒドラでも保存されていることが示唆された (表 2)。さらに、発現が変動した遺伝子のショウジョウバエの相同遺伝子を調べ、ショウジョウバエの神経細胞でノックダウンを行う RNAi スクリーニングを行ったところ、複数の遺伝子がショウジョウバエの睡眠調節に関わることが分かった。新たに同定された睡眠調節遺伝子の一つにオルニチンの代謝に関わる *ornithine aminotransferase (oat)* があり、*oat* を介した睡眠制御は、ショウジョウバエとヒドラの双方で共通していることが分かった。しかし興味深いことに、オルニチンが睡眠長の増減に与える影響は、ショウジョウバエとヒドラで逆であった (表 2)。我々のグループは、ヒドラにおける睡眠の分子機構の探索を続けており、睡眠に影響を与える化合物のスクリーニングから、複数のヒット化合物の候補を得ることに成功している (未発表)。

6. 刺胞動物の概日リズム・睡眠研究の将来性と課題

刺胞動物は、多細胞動物の進化を考える上で重要な系統学的位置を占める。睡眠の進化的変遷・発達を探る上でも、興味深いモデルになるだろう。刺胞動物で観察される睡眠は、これまで報告されている睡眠現象の中で最も原始的であり、その起源にあたる可能性が

高い。散在神経系による睡眠制御の仕組みを明らかにすることで、睡眠研究全般に新しい洞察を与える可能性がある。

概日リズム研究においても、その生態の多様性が生かされる可能性がある。刺胞動物は一般に組織化した光受容器官を持たないが、箱虫綱の一部は、高度に発達したレンズ状の眼を備える³⁰。興味深いことに同じ箱虫綱の中でも、昼行性のクラゲと夜行性のクラゲの存在が報告されており¹⁴、高度な光受容器官を備えた刺胞動物の昼夜の認識と概日時計機構との関連の解明が期待される。また、刺胞動物の多くは、細胞内に共生藻を共生させている。相利共生として安定的な共生関係が確立され、刺胞動物が共生藻の光合成産物を受け取っている。その一方、一部の刺胞動物では、共生確立の進化途上と考えられる不安定な共生現象が観察される^{31,32}。共生-藻宿主間の概日リズムの相互作用等の解明も期待される。

刺胞動物は、このように概日リズム・睡眠の研究対象として興味深い特徴を兼ね備えているが、いくつかの課題がある。刺胞動物を用いた研究のハードルはまず、刺胞動物の多くが実験室で安定的に飼育することが難しい点である。スループットの良さが要求される概日リズム・睡眠研究を行うには、系統化され遺伝的バックグラウンドの揃ったモデル動物の安定的な供給が欠かせない。さらに、分子機構を探索するにあたっては、ゲノム情報等の整備と、遺伝学的手法へのアクセシビリティが重要である。実験室に馴化した刺胞動物で代表的なのは、ネマトステラとヒドラである。ネマトステラとヒドラのゲノムはそれぞれ、2007 年と 2010 年に解読されている^{22,33}。遺伝学的手法に関して、ヒドラではトランスジェニック動物の作製は原理的に可能であるが³⁴、効率が良いとはいえず、複数系統を並列に作製することは難しい。また、電気穿孔法を用いたヒドラ個体への siRNA 導入による遺伝子ノックダウンも確立されているが、その操作によって個体を

大きく損傷するため、個体の行動解析は難しい。こうした遺伝学的手法の限界から、ヒドラの睡眠機構の解析は、薬理学的手法に終始してきた。一方のネマトステラは、CRISPR-Cas9 システムによるゲノム編集により、遺伝子のノックアウト・ノックインを行うことが可能である³⁵。ネマトステラにおける睡眠様状態の報告はこれまでにないが、睡眠制御機構や概日リズム機構の遺伝学的解析を行う上での有用な実験材料となる可能性がある。また近年、ヒドロ虫綱の *Clytia* や *Hydractinia* が刺胞動物の新しい実験モデルとして確立されてきた。CRISPR ノックアウト・ノックインを行うことが可能であり、これらのモデルを採用することで分子機構の解明が飛躍的に進むことが期待される^{12,36}。

7. おわりに

近年では、ヒトやマウスを筆頭とした哺乳動物だけでなく、様々な動物での睡眠現象およびその分子機構が報告されてきている³⁷。もちろん、いわゆる「高等」動物と「下等」動物の睡眠を同じ現象として捉えることには議論の余地がある。現に、ショウジョウバエやヒドラの睡眠が sleep-like states (睡眠「様」状態) と呼ばれていることから、研究者間にその共通認識はあるだろう。ただ、中でも刺胞動物は、その系統学的位置・単純な体制と多様な生態に他の生物とは一線を画す特徴があり、これらの強みが概日リズムや睡眠の研究に生かされる余地はあると我々は考えている。概日リズムや、特に睡眠研究では、いわゆるモデル生物を用いた研究がいまなお主流ではある。しかし、多細胞動物の進化上、神経系を初めて備えたという刺胞動物の系統上の特異性や、生態学的な多様性にあえて着目することで、概日リズム・睡眠機構の適応的意義や進化的側面が明らかになり、ひいては、その単純性からメカニズムの中核をなす本質が導き出されることが期待される。

8. 謝辞

本総説の執筆の機会を与您にいただいた糸和彦先生、池上啓介先生をはじめ、編集委員の先生方に感謝申し上げます。なお本研究の一部は、科学研究費(21H02527、22K19313)、二国間交流事業共同研究(JPJSBP120218815)、および住友財団研究助成金(200292)の支援によって行われました。なお、図の一部は BioRender (<https://biorender.com/>)を用いて作成しています。

参考文献

1. Bosch, T. C. G. *et al.* Back to the Basics: Cnidarians Start to Fire. *Trends Neurosci* **40**, 92-105 (2017).
2. Hendricks, J. C. *et al.* Rest in Drosophila is a sleep-like state. *Neuron* **25**, 129-138 (2000).
3. Shaw, P. J., Cirelli, C., Greenspan, R. J. & Tononi, G. Correlates of sleep and waking in Drosophila melanogaster. *Science* **287**, 1834-1837 (2000).
4. Raizen, D. M. *et al.* Lethargus is a Caenorhabditis elegans sleep-like state (vol 451, pg 569, 2008). *Nature* **453**, 952-952 (2008).
5. Nath, R. D. *et al.* The Jellyfish Cassiopea Exhibits a Sleep-like State. *Curr Biol* **27**, 2984-2990, (2017).
6. Kanaya, H. J. *et al.* A sleep-like state in Hydra unravels conserved sleep mechanisms during the evolutionary development of the central nervous system. *Sci Adv* **6**, eabb9415 (2020).
7. Galliot, B. in *eLS* (John Wiley & Sons, Ltd (Ed.), 2013).
8. Bavestrello, G., Sommer, C. & Sarà, M. Bi-directional conversion in *Turritopsis nutricula* (Hydrozoa). *Scientia Marina* **56**, 137-140 (1992).
9. Schaible, R. *et al.* Constant mortality and fertility over age in Hydra. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**, 15701-15706 (2015).
10. Dupre, C. & Yuste, R. Non-overlapping Neural Networks in Hydra vulgaris. *Curr Biol* **27**, 1085-1097 (2017).
11. Lovas, J. R. & Yuste, R. Ensemble synchronization in the reassembly of Hydra's nervous system. *Curr Biol* **31**, 3784-3796 (2021).
12. Weissbourd, B. *et al.* A genetically tractable jellyfish model for systems and evolutionary neuroscience. *Cell* **184**, 5854-5868 (2021).
13. Mills, C. E. Vertical migration and diel activity patterns of hydromedusae: studies in a large tank. *J Plankton Res* **5**, 619-635 (1983).
14. Garm, A., Bielecki, J., Petie, R. & Nilsson, D. E. Opposite patterns of diurnal activity in the box jellyfish *Tripedalia cystophora* and *Copula sivickisi*. *Biol Bull* **222**, 35-45 (2012).
15. Brady, A. K., Snyder, K. A. & Vize, P. D. Circadian cycles of gene expression in the coral,

- Acropora millepora. *PLoS ONE* **6**, e25072 (2011).
16. Levy, O. *et al.* Complex diel cycles of gene expression in coral-algal symbiosis. *Science* **331**, 175-175 (2011).
 17. Hendricks, W. D., Byrum, C. A. & Meyer-Bernstein, E. L. Characterization of Circadian Behavior in the Starlet Sea Anemone, *Nematostella vectensis*. *PLoS ONE* **7**, e46843 (2012).
 18. Oren, M. *et al.* Profiling molecular and behavioral circadian rhythms in the non-symbiotic sea anemone *Nematostella vectensis*. *Sci Rep* **5**, 11418 (2015).
 19. Reitzel, A. M., Behrendt, L. & Tarrant, A. M. Light Entrained Rhythmic Gene Expression in the Sea Anemone *Nematostella vectensis*: The Evolution of the Animal Circadian Clock. *PLoS ONE* **5**, e12805 (2010).
 20. Reitzel, A. M., Tarrant, A. M. & Levy, O. Circadian Clocks in the Cnidaria: Environmental Entrainment, Molecular Regulation, and Organismal Outputs. *Integr Comp Biol* **53**, 118-130 (2013).
 21. Kanaya, H. J., Kobayakawa, Y. & Itoh, T. Q. *Hydra vulgaris* exhibits day-night variation in behavior and gene expression levels. *Zool Lett* **5**, 10 (2019).
 22. Chapman, J. A. *et al.* The dynamic genome of *Hydra*. *Nature* **464**, 592-596 (2010).
 23. Leung, L. C. *et al.* Neural signatures of sleep in zebrafish. *Nature* **571**, 198-204 (2019).
 24. Medeiros, S. L. *et al.* Cyclic alternation of quiet and active sleep states in the octopus. *iScience* **24**, 102223 (2021).
 25. Rößler, D. C. *et al.* Regularly occurring bouts of retinal movements suggest an REM sleep-like state in jumping spiders. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**, e2204754119 (2022).
 26. Peres, R. *et al.* Developmental and light-entrained expression of melatonin and its relationship to the circadian clock in the sea anemone *Nematostella vectensis*. *Evodevo* **5**, 26 (2014).
 27. Langmesser, S. *et al.* cGMP-dependent protein kinase type I is implicated in the regulation of the timing and quality of sleep and wakefulness. *PLoS ONE* **4**, e4238 (2009).
 28. Donlea, J. *et al.* Foraging alters resilience/vulnerability to sleep disruption and starvation in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 2613-2618 (2012).
 29. Cirelli, C. *et al.* Reduced sleep in *Drosophila* shaker mutants. *Nature* **434**, 1087-1092 (2005).
 30. Coates, M. M. Visual Ecology and Functional Morphology of Cubozoa (Cnidaria)1. *Integr Comp Biol* **43**, 542-548 (2003).
 31. Miyokawa, R. *et al.* Horizontal Transmission of Symbiotic Green Algae Between *Hydra* Strains. *Biol Bull* **235**, 113-122 (2018).
 32. Miyokawa, R., Kanaya, H. J., Itoh, T. Q., Kobayakawa, Y. & Kusumi, J. Immature symbiotic system between horizontally transmitted green algae and brown hydra. *Sci Rep* **11**, 2921 (2021).
 33. Putnam, N. H. *et al.* Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. *Science* **317**, 86-94 (2007).
 34. Klimovich, A., Wittlieb, J. & Bosch, T. C. G. Transgenesis in *Hydra* to characterize gene function and visualize cell behavior. *Nat Protoc* **14**, 2069-2090 (2019).
 35. Ikmi, A., McKinney, S. A., Delventhal, K. M. & Gibson, M. C. TALEN and CRISPR/Cas9-mediated genome editing in the early-branching metazoan *Nematostella vectensis*. *Nat Commun* **5**, 5486 (2014).
 36. Sanders, S. M. *et al.* CRISPR/Cas9-mediated gene knockin in the hydroid *Hydractinia symbiolongicarpus*. *BMC Genomics* **19**, 649 (2018).
 37. Pennisi, E. The simplest of slumbers. *Science* **374**, 526-529 (2021).