

■原 著■ 2007 年度神奈川大学総合理学研究所共同研究助成論文

## クロロフィル分子の多様性に基づく光合成の光エネルギー変換系の基本原理の解明化

三室 守<sup>1,2</sup>、鞆 達也<sup>1</sup>、土屋 徹<sup>1,2</sup>、野口 巧<sup>3</sup>、大久保 辰則<sup>3</sup>、  
秋本 誠志<sup>4</sup>、横野 牧生<sup>5</sup>、井上 和仁<sup>6</sup>

### Study on the Principle of Photosynthetic Light Energy Conversion Based on Divergence of Chlorophyll Molecules

Mamoru Mimuro<sup>1, 2, 7</sup>, Tatsuya Tomo<sup>1</sup>, Tohru Tsuchiya<sup>1, 2</sup>, Takumi Noguchi<sup>3</sup>,  
Tatsunori Okubo<sup>3</sup>, Seiji Akimoto<sup>4</sup>, Makio Yokono<sup>5</sup> and Kazuhito Inoue<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Department of Technology and Ecology, Hall of Global Environmental Research, Kyoto University, Kyoto-City, Kyoto 606-8501, Japan,

<sup>2</sup> Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University, Kyoto-City, Kyoto 606-8501, Japan,

<sup>3</sup> Institute of Materials Science, University of Tsukuba, Tsukuba-City, Ibaraki 305-8573, Japan,

<sup>4</sup> Molecular Photoscience Research Center, Kobe University, Kobe-City, Hyogo 657-8501, Japan,

<sup>5</sup> The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido University, Sapporo-City, Hokkaido 060-8628, Japan,

<sup>6</sup> Department of Biological Sciences, Faculty of Science, Kanagawa University, Hiratsuka-City, Hyogo, Kanagawa 259-1293, Japan.

<sup>7</sup> To whom correspondence should be addressed. E. mail: mamo-mi@mm1.mbox.media.kyoto-u.ac.jp

**Abstract:** The composition of photosystem II (PSII) in the chlorophyll (Chl) *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina* MBIC 11017 was investigated to enhance the general understanding of the energetics of the PSII reaction center. We first purified photochemically active complexes consisting of a 47 kDa chlorophyll protein (CP47), CP43' (PcbC), D1, D2, cytochrome *b*<sub>559</sub>, PsbI, and an unknown small polypeptide. The pigment composition per two pheophytin (Phe) *a* molecules was 55 ± 7 Chl *d*, 3.0 ± 0.4 Chl *a*, 17 ± 3 α-carotene, and 1.4 ± 0.2 plastoquinone-9. A special pair was detected by a reversible absorption change at 713 nm (P713) together with a cation radical band at 842 nm. FTIR difference spectra of the specific bands of a 3-formyl group allowed assignment of the special pair. The combined results indicate that the special pair includes a Chl *d* homodimer. The primary electron acceptor was shown by photoaccumulation to be Phe *a*, and its potential was shifted to a higher value than that in the Chl *a*/Phe *a* system. The overall energetics of PSII in the Chl *d* system adapt to changes in the redox potentials, with P713 as the special pair utilizing lower light energy at 713 nm. Our findings support the idea that changes in photosynthetic pigments combine with modification of the redox potentials of electron transfer components to give rise to energy changes in the total reaction system.

**Keywords:** Chlorophyll, Energetics, Photosynthesis, Reaction center, *Acaryochloris marina*.

#### 序論

地球上に棲息する生物の生命維持装置である光合成は、太陽をエネルギー源とするエネルギー変換過程であり、その機構の解明と応用は人類の持続的生存に大きな意義を持つ。光合成反応系は、光合成生物

の 35 億年の進化によってもたらされたものであり、機構の解明には生物進化の観点からの解析も重要となる<sup>1)</sup>。

光合成生物は、酸素を出す光合成反応を営む酸素

発生型光合成生物と、酸素を出さない光合成反応を営む無酸素型光合成生物に分類される<sup>2)</sup>。後者には光合成細菌(紅色光合成細菌、緑色光合成細菌など)が含まれるが、我々が日常目にする機会が多くないために、研究の対象にされることは限定的である。しかし、反応原理の解明には歴史的にも多用された<sup>3)</sup>。一方、酸素発生型光合成生物は我々の身近にあることもあり、また、酸素呼吸に必要な酸素の供給源という意味でも解析が進められている。

光合成光反応系を駆動するためには光エネルギーの吸収が第一に必要であり、そのために光合成生物は色素を持つ<sup>2, 3)</sup>。光合成色素として、クロロフィル(Chlorophyll, 以下 Chl と略記、光合成細菌にあってはバクテリオクロロフィル)、カロテノイド、さらにフィコビルンがある。前2者はあらゆる光合成生物に含まれるが、フィコビルンは、シアノバクテリア、灰色藻、紅藻、クリプト藻に含まれるのみである。

酸素発生型光合成生物には一般的には Chl *a* と  $\beta$ -carotene が含まれる。Chl *a* はふたつの機能を持つ<sup>3)</sup>。ひとつは光を集め、光化学反応を行う特異な Chl *a* (反応中心 Chl) へエネルギーを渡す役目であり、光化学では増感剤としての機能である。他は、電子伝達系において電子供与体、もしくは電子受容体として機能する場合である。ふたつの機能はともに重要であるが、エネルギー変換という視点からは、後者の電子移動反応への寄与が最も重要な機能といえることができる。

酸素発生型原核光合成生物であるシアノバクテリアでは色素の多様性が知られている<sup>3)</sup>。多くの種は Chl *a* のみを持つのであるが、加えて Chl *b* を持つ種(*Prochloron*, *Prochlorothrix*) や、ビニル基がふたつあるジビニル型の Chl *a* と Chl *b* を持つ種(*Prochlorococcus*)、分子構造としては Chl *c* と同様にポルフィリン骨格を持ち、Chl *a* 生合成の中間体であるジビニルプロトクロロフィリドを持つ種な

どがある。こうした色素の多様性が見いだされているが、反応中心で電子供与体として機能するのは Chl *a* (型) であり、Chl *b* (型)、Chl *c* (型) はアンテナとしての機能を持つのみである。

1996年、宮下らによって発見されたシアノバクテリア、*Acaryochloris marina* MBIC 11017 は主要な色素として Chl *d* を持つ<sup>4, 5)</sup> (図1)。Chl *d* は1943年、アメリカの Manning と Strain によって紅藻の第2のクロロフィルとして発見されたが<sup>6)</sup>、存在量が少なく、再現性に乏しかったこと、1959年には Chl *a* の分解産物に見いだされたこと<sup>7)</sup>、などから、それ以降は天然に存在する色素とは考えられなくなっていた<sup>7)</sup>。しかし、1996年の *A. marina* の発見によって天然に存在することが判明した。さらに2004年、村上らは紅藻の表面に付着するシアノバクテリア *Acaryochloris* sp. 淡路株が真の Chl *d* の生産者であることを明らかにし、60年来の謎が解明された<sup>8)</sup>。淡路株は16S rRNA の塩基配列に基づく系統解析の結果、*A. marina* MBIC 11017 の亜種とされた<sup>8)</sup>。

*A. marina* MBIC 11017 の色素分析の結果、主要な色素は Chl *d* であるものの、Chl *a* も微量ながら必ず存在し、かつその含量は細胞培養時の光条件によって変化することが見いだされた<sup>9)</sup>。複数の色素が混在する場合、電子供与体などの電子伝達成分にはどちらが使われるか、その理由は何か、などが光合成電子伝達系の普遍的な理解には極めて重要な情報をもたらす。そこで我々はこの研究において、電子伝達体の同定を試みた。今回は特に従来、ほとんど実体が明らかにされていなかった光化学系 II (PS II) の解析を行った。そのためには純度の高い標品が必要であり、その単離方法から検討することとした。

## 材料と方法

### 細胞の培養

シアノバクテリア、*Acaryochloris marina* MBIC 11017 の培養には IMK 培地を用いて、光合成条件下で行った<sup>6, 9)</sup>。光強度は  $15 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \text{s})$ 、温度 25 度、空気を通気しながら培養した。特に二酸化炭素濃度を上げた空気を使うことはしなかった。

### PS II 複合体の単離・精製

細胞を集菌し、洗浄後、フレンチプレスで破壊した。未破壊の細胞などを遠心操作で取り除いた後、さらに遠心操作でチラコイド膜分画を集めて、一旦、凍結保存した。解凍後、界面活性剤 (DM) を

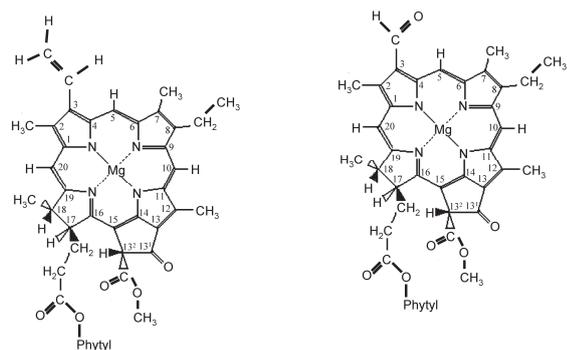


図1. クロロフィルの分子構造. 左, Chl *a*; 右, Chl *d*.

用いて複合体の遊離を促し、遠心操作で複合体を含む画分を集めた。さらに2種類のカラムクロマトグラフィー (DEAE-Toyopearl 650S と UnoQ) とショ糖密度勾配遠心操作により精製を行った。構成するサブユニットは SDS-PAGE で、また色素は HPLC (JASCO, MD-915) を用いて分析した<sup>10)</sup>。

### 分光学的測定

吸収スペクトルは、日立 557 分光光度計、もしくはキャリー500 分光光度計で、蛍光スペクトルは日立 850 分光蛍光光度計で測定した<sup>11)</sup>。FTIR スペクトルは Bruker IFS-66/S で測定した<sup>12)</sup>。時間分解蛍光スペクトルは、時間相関単一光子計測法により蛍光減衰曲線を得た後、計算によってスペクトルを再構築した<sup>9, 11)</sup>。蛍光寿命は convolution 計算によって算出した<sup>9, 11)</sup>。吸収変化は、日立 0080D フォトダイオードアレイ分光光度計を用い、光源とフィルターの組み合わせで測定した<sup>13)</sup>。

## 結果

### PS II 複合体の性質

精製した複合体は2量体であった。そのサブユニット組成は、PsbA (D1), PsbB (CP47), PsbD (D2), *cyt b<sub>599</sub>*  $\alpha$ -subunit, CP43' (PcbC) が主要なもので、その他に *cyt b<sub>599</sub>*  $\beta$ -subunit と PsbI が同定された (図2)。さらにひとつのポリペプチドが見いだされたが、部分的なアミノ酸配列からもその同定はできなかった。PS I に対して作られた抗体は全く反応を示さないことから、過去の報告の中で最も純度の高い複合体であることが判明した。

### 光化学反応活性

単離された複合体について、DPC (diphenylcarbazide) を電子供与体とし、DCIP (2,6-dichlorophenol-indo-

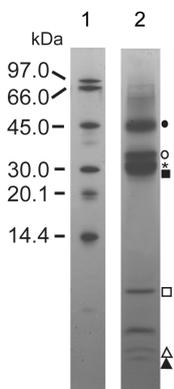


図2. レーン1, MWマーカ; レーン2, 精製 PSII 複合体。●CP47, ○D2, ★D1, ■CP43', □*cyt b<sub>599</sub>*  $\alpha$ -subunit, △PsbI, ▲*cyt b<sub>599</sub>*  $\beta$ -subunit。

phenol) を電子受容体とする光化学反応活性を測定すると、230  $\mu\text{mol/mg Chl/hr}$  という活性を示した。この値は、この複合体を用いて解析を行うのに十分の試料であることを示している。

### 色素組成

複合体中に4種の色素、Chl *d*, Chl *a*, Phe *a*,  $\alpha$ -carotene を見いだした。2分子の Phe *a* に対する相対含量は、 $55 \pm 7$  Chl *d*,  $3.0 \pm 0.4$  Chl *a*,  $17 \pm 3$   $\alpha$ -carotene ( $n=4$ ) であった。Chl *a* は確かに存在していた。他のシアノバクテリアで知られている結晶構造を基準に考えると *A. marina* の PS II 標品には Chl *d* の量がやや多いが、これは CP43 ではなく、CP43' が含まれていることに起因すると考えられる。

第2次の電子受容体であるキノン (plastoquinone-9) の含量も同様に定量を行った。2分子の Phe *a* に対して、 $1.4 \pm 0.2$  分子が検出された。完全な複合体の場合、2分子のキノンの存在が期待されるが、それに近い値となった。少なくとも Q<sub>A</sub> は結合していることが明らかとなった。*cyt b<sub>599</sub>* の含量は 55 Chl *d* に対して1分子であり、Phe *a* の含量を基にすると、PS II あたり1分子が存在すると考えられた。

### 吸収スペクトルと蛍光スペクトル

室温で測定された吸収スペクトル (図3) では 702 nm に極大が観測された。二次微分スペクトルを求めると、697 nm にも成分が見いだされた。さらに 715 nm 付近にも成分が見いだされた。以前の報告では 725 nm にも成分が観測されていたが、これは純度の低い試料を使つての測定であったためと考えられた。 $\alpha$ -carotene に由来する吸収帯が 490 nm に見いだされた。

液体窒素温度での蛍光スペクトルを測定すると、さらに成分が明瞭になった (図3)。435 nm 光で励起した時、大半の光は主要な色素である Chl *d* に吸収されるが、一部は Chl *a* も同時に励起することができる。この条件下では 680, 700, 728 nm に蛍光極大が観測された。前者の起源は必ずしも明瞭で

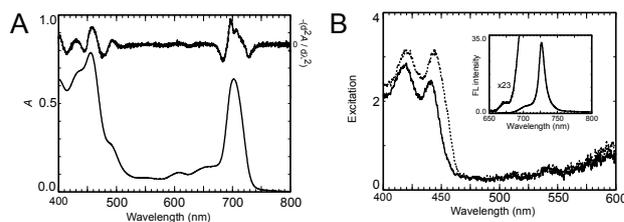


図3. 精製 PS II 複合体の室温吸収スペクトル (A), 77 K 蛍光スペクトル (B)。

はなく、後 2 者は Chl *d* に由来することが明らかであった。前者の起源を明らかにするために、励起スペクトルを測定した。680 nm でモニターした場合、443 nm と 418 nm にバンドが検出された。前者は Chl *a* の、また後者は Phe *a* のソーレー帯に一致する。これらの結果から、680 nm 付近の蛍光は Chl *a* と Phe *a* の混合したバンドであること、吸収スペクトルでは判別が困難であった Chl *a* と Phe *a* の存在が明らかになった。

### 電子供与体の同定

2 種類の方法で同定を試みた。まず光照射前後の吸収変化を求めた (図 4)。その結果、713 nm に負の極大を示し、842 nm 付近に正の極大を持つ差スペクトルが得られた。前者は電子供与体の褪色に対応し、後者はカチオンラジカルの生成に対応することが判明した。この測定により電子供与体は Chl *d* であることが判明した。

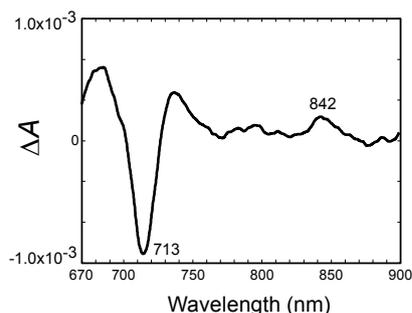


図 4. 精製 PS II 複合体の光照射における吸収変化。

次にフーリエ変換赤外分光法 (FTIR) により同定を試みた (図 5)。3 種類の試料、すなわち *A. marina* の PS II 複合体、シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 (以下 *Synechocystis* と略記) から調製した PS II コア標品、さらにホウレンソウから調製した BBY 粒子 (PS II を多く含むチラコイド膜標品)、について、カチオンとニュートラルとの間の差スペクトルを測定した (図 4)。1800  $\text{cm}^{-1}$  から 1100  $\text{cm}^{-1}$  の領域は C=O 伸縮振動とクロリン環の振動についての情報を与える。3 種類の試料ともによく似たスペクトルを与えた。正の 1725-1723  $\text{cm}^{-1}$  と 1711  $\text{cm}^{-1}$ 、これに対応する 1680-1620  $\text{cm}^{-1}$  のバンドは 13<sup>1</sup>位のケト基の伸縮振動を示す。1680-1620  $\text{cm}^{-1}$  は主にポリペプチドの情報を与える。1617-1150  $\text{cm}^{-1}$  領域は、CC 伸縮振動、CN 伸縮振動、CH 偏角振動など複雑に組み合わさった信号であり、したがってこの領域は指紋領域と呼ばれ、Chl 分子種の違いを明瞭に示す。

しかし、クロリン環の振動を示す領域のスペクト

ルを精査すると違いが明瞭になった。1170, 1182, 1220, 1286, 1492, 1521  $\text{cm}^{-1}$  のバンドは、*Synechocystis* とホウレンソウではほとんど差がないが、*A. marina* の PS II 複合体においては 2-5  $\text{cm}^{-1}$  ほど違いがあるのが観測された。これらの差異は、*A. marina* の PS II 電子供与体が Chl *a* とは異なり、Chl *d* であることを示唆している。決定的な証拠は Chl *d* に特有の 3 位のフォルミル基 (-CHO) に特異的な信号を検出することによってもたらされた (図 5B)。フォルミル基の CH 伸縮振動は 2700  $\text{cm}^{-1}$  領域に特異的なバンドを示すことが知られており、さらにそれは *A. marina* の PS I 複合体において実証されている<sup>14)</sup>。我々は *A. marina* の PS II 複合体について 2723 と 2696  $\text{cm}^{-1}$  に明瞭なバンドを検出した (図 5B)。一方これらのバンドは *Synechocystis* とホウレンソウでは観測されなかった。この結果は、*A. marina* の PS II の電子供与体が Chl *d* であることを端的に示した。

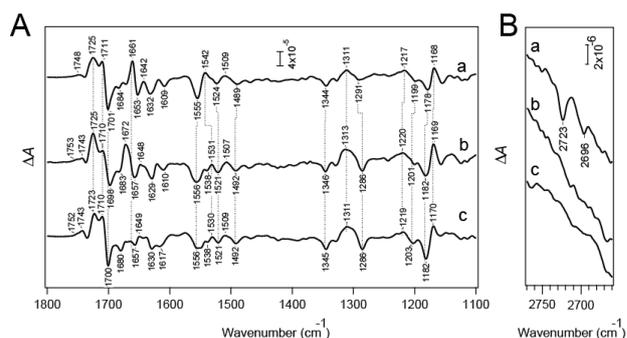


図 5. 精製 PS II 複合体の光誘起 FTIR 差スペクトル (a: *A. marina*, b: *Synechocystis*, C: spinach)。

これら 2 種類の観測の結果、*A. marina* の PS II の電子供与体は Chl *d* の 2 量体であることが明らかになった。電子供与体を P680 に倣って P713 と名付けた。

### 電子受容体の同定

電子受容体に関しては、他のシアノバクテリアとの色素組成の比較から Phe *a* がその候補と考えられてきたが、それは証拠に基づいたものではなく、単に推測の域を出なかった。我々は光化学反応に伴う吸収変化によってその同定を試みた。ホウレンソウや他のシアノバクテリアから単離された PS II 複合体では、sodium dithionite を添加した条件で還元された Phe *a* の蓄積が観測されている<sup>15)</sup>。同様の測定を試みたが信号は全く得られなかった (図 6 点線)。この条件で電荷再結合に起因する遅延蛍光を測定すると、全く信号が得られないことが判明した。

これは電荷分離反応が起こっていないことを示していた。そこで Phe a から電子を受け取るキノン分子を除くことによって還元された Phe a の蓄積を観測することを試みた。その結果、546 nm に還元された Phe a の蓄積による負の吸収バンドを観測でき (図 6 実線)、電子受容体が Phe a であることが初めて実証された。sodium dithionite 存在下では Phe a の還元が観測されなかった原因として、Phe a の電位が高くなっていることが考えられた。

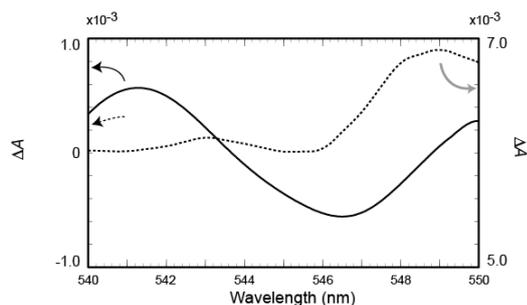


図 6. 精製 PS II 複合体の光還元による Phe a の蓄積。

### その他の因子

液体窒素温度での時間分解蛍光測定と、蛍光減衰曲線の測定により、Chl a の蛍光波長領域に明瞭な遅延蛍光を観測した (図 7)。これは電荷再結合に起因し、液体窒素温度では 10 ナノ秒領域に観測される成分である。観測結果は Chl a が電子伝達系に含まれることを示している。しかし、その電子伝達経路での局在性は現時点では明らかではない。データは示さないが、FTIR、差吸収スペクトルによって Chl z が 2 分子共に Chl d であることが判明した。

### 討論

従来我々は、遅延蛍光が Chl a の領域にしか観測されないこと、また、Chl d の酸化電位が Chl a よりも低い可能性があり、水分解に十分な酸化電位を確保するのが難しいと考えられること、のふたつの理

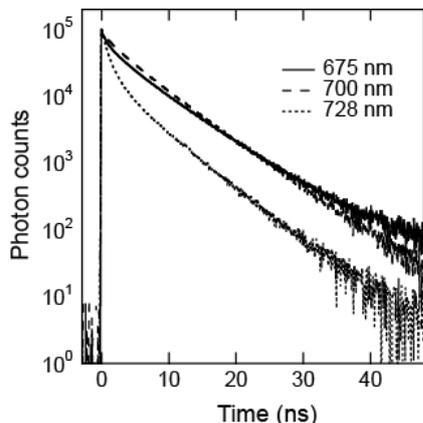


図 7. 精製 PS II 複合体の各波長における蛍光減衰曲線。

由により、PS II の電子供与体は Chl a であることを主張してきた<sup>9, 11)</sup>。しかし、今回の実験結果は異なる事実を示した。すなわち、*A. marina* の PS II の電子供与体は Chl d の 2 量体であること、電子受容体 (Phe a) の還元電位が上がっていること、が明らかとなった。また、ドイツのグループは、PS II 電子供与体の酸化電位は他のシアノバクテリアと同じであることを強く示唆するデータを報告している<sup>16)</sup>。これらの結果を総合すると、電子伝達系の構築に関しての一般則を導くことができる。それは、電子伝達系の酸化側の電位は変わらず、P680 と P713 の違いによって生じる獲得できる光エネルギーの差 (約 0.1 V) は、還元側の電位を調整することで実現するというものである。こうした構築原理は、色素として Chl a が使われている限り知ることのできない情報であり、色素の多様性を考察することによって初めて得られた情報である。この意味で、色素の多様性が単に形質変異のひとつとして見られるのではなく、新たな構築原理の導出に有意であることが証明された意義は大きい。

光合成色素の多様性はシアノバクテリアでは顕著であるが、葉緑体を獲得した後は特定の系統群では組成は固定され、ほとんど変化しない。唯一の例外が褐藻、珪藻など Chl c を含む分類群であり、その多様性はよく知られている<sup>17)</sup>。しかしこれらの多様性はアンテナとして機能する色素の多様性であり、今回我々が観測した電子伝達成分としての多様性ではない。シアノバクテリアで観測される色素、特に Chl 分子種の多様性は、電子伝達系の構築、その原理などに関する情報を与える。その意味で多様性を基に反応原理を知ることができる特異な系である。この考えを発展させると、遺伝子操作によって人為的に色素種を変えた時の反応系の変化を見ることによる解析方法も考えられる。進化過程を作り出すことで、自然の種を対象にしているだけでは観測されない現象に遭遇することもあると考えられる<sup>18)</sup>。

### 謝辞

この研究は神奈川大学総合理学研究所共同研究助成「テトラピロール光受容体の分子機構に関する研究」の援助と科学研究費補助金 (学術創成研究) の補助を得て遂行された。ここに謝意を表します。

### 文献

- 1) Blankenship RE (2002) *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. Blackwell Science, Malden, MA
- 2) 三室 守 (2008) これからの光合成研究-生物物理の視点から. *生物物理* 印刷中.
- 3) Mimuro M, Kobayashi M, Murakami A, Tsuchiya

- T and Miyashita H (2007) Structure and function of antenna systems: Oxygen evolving cyanobacteria. In: *Primary Processes of Photosynthesis: Principles and Apparatus, Part 1*. Renger G, ed., RSC Publishing, Cambridge, UK. pp. 261-299.
- 4) Miyashita H, Ikemoto H, Kurano N, Adachi K, Chihara M and Miyachi M (1996) Chlorophyll *d* as major pigment. *Nature* **383**: 402.
  - 5) Miyashita H, Adachi K, Kurano N, Ikemoto H, Chihara M and Miyachi M (1997) Pigment composition of a novel oxygenic photosynthetic prokaryote containing chlorophyll *d* as the major chlorophyll. *Plant Cell Physiol.* **38**: 274-281.
  - 6) Manning WM and Strain HH (1943) Chlorophyll *d*, a green pigment of red algae. *J. Biol. Chem.* **151**: 1-19.
  - 7) Holt AS and Morley HV (1959) A proposed structure for chlorophyll *d*. *Can. J. Chem.* **37**: 507-514.
  - 8) Murakami A, Miyashita H, Iseki M, Adachi K and Mimuro M (2004) Chlorophyll *d* in an epiphytic cyanobacterium of red algae. *Science* **303**: 1633.
  - 9) Mimuro M, Akimoto S, Gotoh T, Yokono M, Akiyama M, Tsuchiya T, Miyashita H, Kobayashi M and Yamazaki I (2004) Identification of the primary electron donor in PS II of the Chl *d*-dominated cyanobacterium *Acaryochloris marina*. *FEBS Lett.* **556**: 95-98.
  - 10) Tomo T, Okubo T, Akimoto S, Yokono M, Miyashita H, Tsuchiya T, Noguchi T and Mimuro M (2007) Identification of the special pair of photosystem II in the chlorophyll *d*-dominated cyanobacterium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**: 7283-7288.
  - 11) Mimuro M, Akimoto S, Yamazaki I, Miyashita H. and Miyachi S (1999) Fluorescence properties of Chlorophyll *d*-dominating prokaryotic alga, *Acaryochloris marina*: Studies using time-resolved fluorescence spectroscopy on intact cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1412**: 7-46.
  - 12) Sugiura M, Rappaport F, Brettel K, Noguchi T, Rutherford AW and Boussac A (2004) Site-directed mutagenesis of *Thermosynechococcus elongatus* photosystem II: The O<sub>2</sub>-evolving enzyme lacking the redox-active tyrosine D. *Biochemistry* **43**: 13549-13563.
  - 13) van Gorkom HJ, Pulles MPJ and Wessels JSC (1975) Light-induced changes of absorbance and electron spin resonance in small photosystem II particles. *Biochim Biophys Acta* **408**: 331-339.
  - 14) Sivakumar V, Wang R, and Hastings G (2003) Photo-oxidation of P740, the primary electron donor in photosystem I from *Acaryochloris marina*. *Biophys. J.* **85**: 3162-3172.
  - 15) Tomo T, Mimuro M, Iwaki M, Kobayashi M, Itoh S and Satoh K (1997) Topology of pigments in the isolated photosystem II reaction center studied by selective extraction. *Biochim. Biophys. Acta* **1321**: 21-30.
  - 16) Shevela D, Nöring B, Eckert H-J, Messinger J and Renger G (2006) Characterization of the water oxidizing complex of photosystem II of the chl *d*-containing cyanobacteria *Acaryochloris marina* via its reactivity towards endogenous electron donors and acceptors. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **8**: 3460-3466.
  - 17) Jeffrey SW, Mantoura RFC and Wright SW (1997) *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods* UNESCO Publishing.
  - 18) Mimuro M and Tanaka A (2004) The *in vivo* and *in vitro* reconstitution of pigment-protein complexes, and its implication in acquiring a new system. *Photosynth. Res.* **81**: 129-137.