

## 美国白蛾核型多角体病毒超氧化物歧化酶 基因的序列分析和表达

曹广力 薛仁宇 朱越雄 魏育红 贡成良

(苏州大学基因工程实验室 苏州 215151)

**摘 要:**根据测序结果, HcNPV *sod* 的核苷酸序列与 BmNPV *sod* 的完全一致, 与 AcNPV *sod* 的核苷酸序列相比, 同源性达到 97.2%; 推测 HcNPV *sod* 编码 151 个氨基酸, 与 BmNPV *sod* 的完全一致, 与 AcNPV *sod* 编码的氨基酸相比, 有三个氨基酸的差别。按氨基酸序列分析表明, HcNPV SOD 蛋白中含有对 SOD 结构和活性必需的氨基酸残基, 在 HcNPV *sod* 中均是保守的。SOD 活性测定表明酶活为 147.09U/mL 菌液。

**关键词:** 美国白蛾核型多角体病毒, 超氧化物歧化酶, 表达, 进化分析

**中图分类号:** Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2001) 02-0173-08

超氧化物歧化酶(SOD, Superoxide dismutase)是一种氧自由基清除系统中的一个重要酶, 它催化超氧阴离子的歧化反应<sup>[1,2]</sup>。在生物体生理机能正常的情况下, 可以与过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)一起清除自由基, 使自由基维持在一个极低水平的平衡状态, 以保护生物体内功能大分子不被氧化破坏, 因此在机体保护中起着很重要的作用。它的存在不仅与生物体内的解毒有关, 也发现与机体的衰老、肿瘤及免疫性疾病有关<sup>[2]</sup>。SOD 分布很广, 几乎从哺乳动物到植物、细菌中均存在, 但不同的生物体内 SOD 的种类和数量不同。SOD 的种类包括铜锌 SOD(Cu/Zn-SOD), 锰 SOD(Mn-SOD), 铁 SOD(Fe-SOD)<sup>[1,2]</sup>, Cu/Zn-SOD 存在于真核细胞的胞浆中, Mn-SOD 既存在于真核细胞中又存在于原核细胞中, Fe-SOD 几乎存在于原核细胞中。近年来, 在牛痘病毒 VaV (vaccinia virus) 和苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(AcNPV, Autographa californica nuclear polyhedrosis virus)等病毒基因组中也发现了与 SOD 基因(*sod*)有一定同源性的基因<sup>[3,4]</sup>。Tomalski 等克隆了 AcNPV 的 *sod*<sup>[4]</sup>, 其氨基酸序列与人的 Cu/Zn-SOD 基因 *sod1* 的同源性为 50%, 但未知其功能。杆状病毒为闭合环状双链 DNA 病毒, AcNPV 和家蚕核型多角体病毒(BmNPV, Bombyx mori nuclear polyhedrosis virus)是研究得较为深入的两个代表种。王文兵等克隆了 BmNPV 的 *sod*<sup>[5]</sup>, 测序并在 *E. coli* 中进行了表达, 其氨基酸序列与人的 *sod1* 的同源性为 56%, 与 AcNPV 的 *sod* 的同源性为 97.2%, 证明了该基因确实有 SOD 活性。

由于有关美国白蛾核型多角体病毒(HcNPV, Hyphantria cunea nuclear polyhedrosis virus)基因组中 *sod* 的研究还未见报道, 因此我们克隆了 HcNPV 的 *sod*, 进行了序列分

\* 通讯作者

**作者简介:** 曹广力(1964-), 男, 江苏张家港人, 苏州大学生物系副教授, 主要从事遗传学和分子生物学教学及研究。

**收稿日期:** 2000-03-10, **修回日期:** 2000-08-07

析,并在原核细胞表达系统中进行了表达。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞株、病毒、质粒

SPIM 细胞、HcNPV 由日本三重大学分子生物学实验室提供,本实验室保存;*E. coli* 的 TG1 和 BL21 菌株、测序质粒载体 pSK(+)(Amp<sup>r</sup>)和表达质粒载体 pET28a(Kan<sup>r</sup>)由中国科学院上海生物化学研究所提供,本实验室保存。

### 1.2 试剂

DNA 测序试剂购自 USB 公司,Taq 酶、T4DNA 连接酶、限制性内切酶及其它试剂购于 GIBCO BRL 公司。

### 1.3 引物设计

引物根据 AcNPV 的 *sod* 基因设计引物,由上海生工公司合成,分别为:

Primer1:5'-CAGGATCCATGAAAGCCATTTGCA-3',

Primer2:5'-CCGAATTCAGCGATGACATCATTT-3'

### 1.4 病毒 DNA 的制备

收集病毒感染的 SPIM 细胞培养液,8000r/min 离心 10min,上清液用 SW-27 转子 24000r/min 超离 30min;将沉淀的病毒粒子悬于 1mL 的 TE(pH8.0)中,加蛋白酶 K 至终浓度为 50 $\mu$ g/mL,50 $^{\circ}$ C 水浴 2h;再加 Sarkosel 至终浓度为 1%,50 $^{\circ}$ C 水浴 2h;用等体积过饱和酚、氯仿/异戊醇(24:1)各抽提一次,12000r/min 离心 5min,上清加入 2.5 倍体积的 95% 冷乙醇,DNA 呈絮状沉淀,用玻璃棒搅出,70% 的乙醇洗涤一次,自然蒸发残余乙醇,溶于适量 TE 中;电泳检查,4 $^{\circ}$ C 放置待用。

### 1.5 PCR 扩增反应

在 0.5mL 的 Eppendorf 管中进行反应,PCR 仪为杭州大和-上海申和热磁电子有限公司的“生命快车”基因扩增仪(TC-48/T/H),热盖操作。PCR 反应设计为:93 $^{\circ}$ C 预变性 5min 后进入循环;93 $^{\circ}$ C 变性 30s,55 $^{\circ}$ C 退火 45s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45s,35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 总延伸 10min。取 PCR 产物 10 $\mu$ L 电泳检测。

### 1.6 DNA 序列测定

将 PCR 扩增的 *sod* DNA 片段经低熔点胶分离回收后,用 *Eco*RI + *Bam*HI 酶切,与经同样酶切的测序质粒 pKS(+)(Amp<sup>r</sup>)连接后,转化 *E. coli* TG1,在 LB 平板(含 IPTG 和 X-gal)上挑取白色的单菌落,快速抽提质粒 DNA 阳性克隆的菌株大量培养后,抽提 DNA 用于测序。低熔点胶分离回收、酶切、连接、感受态细胞的制备、转化、质粒的快速抽提、酶切鉴定等参照文献[6]。克隆策略图见图 1。

### 1.7 原核表达质粒的构建

将克隆进 pSK(+ )并经测序正确的质粒用 *Eco*RI 和 *Bam*HI 酶切,分离带有 *sod* 的 DNA 片段,与同样酶切的 pET28a(+ ) (Kan<sup>r</sup>)连接后,转化 TG1,在 LB 平板上挑取单菌落,快速抽提质粒 DNA,进行酶切鉴定。*sod* 插入到 pET28a(+ )的重组质粒的菌株,抽提质粒 DNA,转化到表达型 *E. coli* BL21 中,用于表达。操作过程参照文献[6]。克隆策略图见图 2。

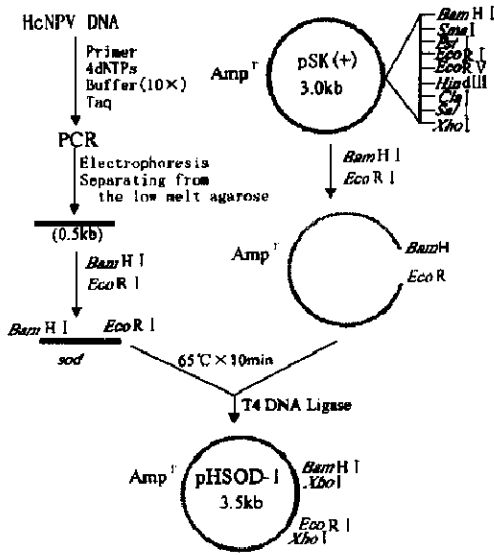


图 1 测序克隆策略图

Fig.1 Construction of colon vector

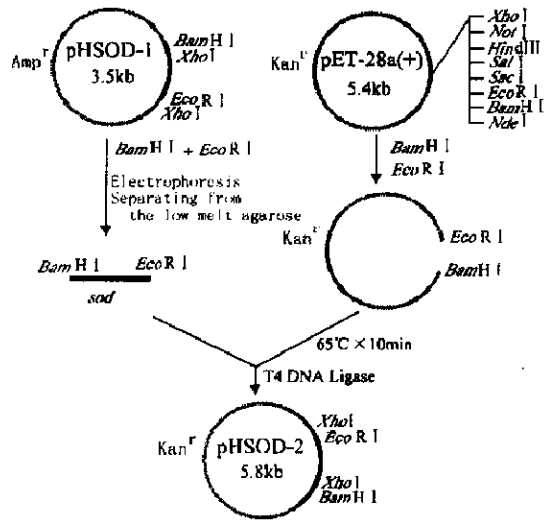


图 2 表达克隆策略图

Fig.2 Construction of expression vector

### 1.8 *sod* 在 *E. coli* 中的表达

带有重组质粒的 BL21 菌经活化后,以 1% 的菌液加入到 LB 培养基中,37℃,300r/min 振荡培养至  $OD_{550}$  为 0.5~0.6 时,加入终浓度为 0.5m mol/L 的 IPTG 诱导,同时加入终浓度为 1m mol/L 的  $CuSO_4$  和 0.5m mol/L 的  $ZnSO_4$ ,3h 后收集菌体,菌体溶于 3mL TE 中,加溶菌酶作用 30min 后,用超声波破碎包涵体,溶液直接用于检测 SOD 活性。

### 1.9 SOD 活性的测定

参照谢卫华<sup>[7]</sup>等连苯三酚自氧化法测定 SOD 活性。25℃,体积为 4.5mL,50mol/L pH8.2 Tris-HCl 缓冲液中,加入连苯三酚,控制其自氧化速率为 0.070 OD/min,在同样量的连苯三酚中加入 SOD 酶液体,加入的酶液量恰好抑制连苯三酚自氧化速率为 0.035 OD/min,根据下列公式计算 SOD 酶液的活性:

$$\text{单位体积活力 (U/mL)} = \frac{0.070 - \text{样液速率}}{0.070} \times 100\% \times \frac{\text{反应总体积}}{50\%} \times \frac{\text{样液稀释倍数}}{\text{样液体积}}$$

以未诱导的菌液为对照,差值为 SOD 的活性值。

## 2 结果和分析

### 2.1 重组测序质粒的构建及鉴定

以纯化的 HcNPV 病毒抽提的 DNA 为模板进行 PCR 反应。PCR 结果显示一条特异性条带。反应产物经低溶点胶分离回收后,克隆进 pSK(+)(Amp<sup>r</sup>)质粒,在 LB 平板(含 IPTG 和 X-gal)上挑取白色单菌落,快速抽提质粒 DNA。以 *EcoRI* 和 *BamHI* 酶切鉴定,结果显示一条约 500bp 的 DNA 条带。因 *sod* DNA 中,5'端约 100bp 处有一个 *XhoI* 位

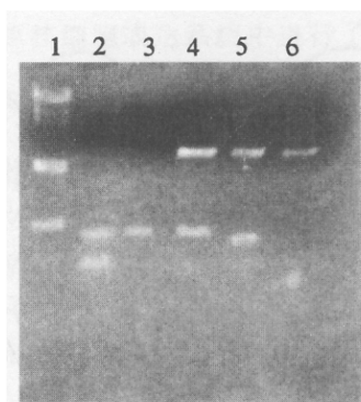


图3 重组测序质粒的酶切鉴定

Fig.3 Restriction detection of recombinant colon vector

1. Marker  $\lambda$ DNA/*Hind*III; 2. PCR products; 3. The purified PCR products; 4. pHSD-1/*Eco*RI + *Bam*HI; 5. pHSD-1/*Xho*I; 6. pSK(+)/*Eco*RI + *Bam*HI.

ATGAAAGCCA TTTGCATCAT TAGCGGCGAT GTTCATGGAA AAATTTATTT  
TCAACAAGAA TCAGCGAATC GACCGCTTAA AATTAGCGGT TATTTGTTAA  
ATTTGCCTCG AGGTTTGCAC GGCTTTCACG TGCACGAATA TGGCGACACG  
AGCAACGGTT GCACGTCGGC CGGTGAGCAT TTTAATCCCA CCAATGAGGA  
CCACGGCGCT CCCGATGCTG AAATTAGGCA TGTTGGCGAC TTGGGCAACA  
TAAAGTCGGT TGGCTACAAT TCGCTGACCG AAATAAACAT GATGGACAAC  
GTTATGTCTT TATATGGCCC GCATAATATT ATAGGAAGAA GTTTGGTTCGT  
GCACACGGAC AAAGACGATC TGGGCCTTAC CGAGCATCCG TTGAGCAAAA  
CAACCGGCAA TTCTGACGGC CGTTTGGGAT GCGGAATAAT TGCCATATGT  
AAATGA

图4 HcNPV *sod* 基因的核苷酸序列

Fig.4 HcNPV *sod* nuclear acid sequence Primer sequence under lined is designed for AcNPV *sod*

图5. *sod* 插入到 pET28a(+) 的重组质粒命名为 pHSD-2。将带有 pHSD-2 的菌株, 抽提质粒 DNA, 转化到表达型 *E. coli* BL21 中, 用于表达。

## 2.4 表达产物的 SOD 活性检测

AcNPV *sod* 基因克隆进原核表达载体 pET28a 后, 在 *E. coli* BL21 株中进行了表达, 活性为 147.09U/mL 菌液, 证明该基因确实有 SOD 酶活性。

## 2.5 *sod* 核苷酸序列与氨基酸序列分析

舞毒蛾核型多角体病毒 (*Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus, LdNPV)、

点, 载体中只有一个 *Xho*I 位点, 通过 *Xho*I 酶切鉴定, 结果显示一条约 100bp 的 DNA 条带。酶切鉴定结果见图 3, 其中电泳胶浓度为 1.2%。将酶切鉴定正确的质粒命名为 pHSD-1。

## 2.2 *sod* 序列

将酶切鉴定正确的重组质粒进行测序, 测序结果如图 4。

## 2.3 重组表达质粒的构建及鉴定

用 *Eco*RI 和 *Bam*HI 酶切出克隆进 pSK(+) 并经测序正确的 *sod* 的 DNA 片段, 装入 PET(+), 转化 TG1, 在 LB 平板上挑取单菌落, 快速抽提质粒 DNA, 分别用 *Eco*RI + *Bam*HI 和 *Xho*I 酶切鉴定, 酶切鉴定结果见



图5 重组表达质粒的酶切鉴定

Fig.5 Restriction detection of recombinant expression vector  
1. PCR products; 2. Marker  $\lambda$ DNA/*Hind*III; 3. pHSD-2/*Xho*I; 4. pHSD-2/*Eco*RI + *Bam*HI.

黄杉毒蛾核型多角体病毒(*Orgyia pseudotsuyata* nuclear polyhedrosis virus, OpNPV)、BmNPV、AcNPV 等 *sod* 基因序列来自于 GenBank, 编号分别为 AF081810、U75930、L33180、L22858, 人 *sod1* 基因、豌豆 Cu/Zn-SOD II cDNA 序列来自于文献<sup>[5,8]</sup>。

根据测序结果, HcNPV *sod* 核苷酸序列 ORF 为 456bp, 与 BmNPV *sod* 的完全一致, 与 AcNPV、LdNPV、OpNPV *sod* 和人 *sod1*、豌豆 Cu/Zn-SOD II cDNA 序列相比, 同源性分别为 97.2%、69.5%、68.4%、53.7%、57.7%。推测 HcNPV *sod* 编码的 151 个氨基酸与 BmNPV *sod* 的完全一致, 与 AcNPV、LdNPV、OpNPV *sod* 和人 *sod1*、豌豆 Cu/Zn-SOD II cDNA 这些 *sod* 基因编码的氨基酸序列相比, 同源性分别为 96.7%、72.2%、72.2%、51%、45%(图 6)。



图 6 五种 NPV 的 *sod* 和人的 *sod1* 基因核苷酸序列相互比较

Fig. 6 The alignment of 6 *sod* gene nucleic acid sequences

推测 HcNPV *sod* 编码的 151 个氨基酸与 AcNPV *sod* 编码的氨基酸相比,只有三个氨基酸的差别,即 Val<sup>87</sup> Ala, Glu<sup>128</sup> Asp, Asp<sup>139</sup> Gly。氨基酸序列分析表明, HcNPV SOD 蛋白中含有对 SOD 结构和活性必需的氨基酸残基,如 His40、43、60、118 等 Cu 离子结合位点, His60、68、77, Asp80 等 Zn 离子结合位点<sup>[9,10]</sup>, 对酶活性起关键作用的 Arg141, 形成分子内二硫键的 Cys54、144<sup>[11]</sup>, 以及构成分子骨架的近 20 个 Gly 等<sup>[12]</sup>在 HcNPV *sod* 中均是保守的。Junichi 等<sup>[13]</sup>构建了人的 *sod1* 基因的两个突变子: Gly<sup>41</sup> Asp, His<sup>43</sup> Arg, 测定其活力只有原来的 47% 和 66%, 说明这两个氨基酸对其活性影响较大, 如同 BmNPV SOD、AcNPV SOD 中一样, 这两个氨基酸也是保守的。五种 NPV 的 SOD 和人的 *sod1* 基因核苷酸序列比较见图 6, 氨基酸序列比较见图 7。

HcNPV	M--KAICIIISGD--VHGKIYFQQESANRPLKISGYLLNLPRGLHGFHVHEYGDTSNCGTSAGEHFNPTNEDHGAPDAEIRHYGD	80
BmNPV	M--KAICIIISGD--VHGKIYFQQESANRPLKISGYLLNLPRGLHGFHVHEYGDTSNCGTSAGEHFNPTNEDHGAPDAEIRHYGD	80
AcNPV	M--KAICIIISGD--VHGKIYFQQESANQPLKISGYLLNLPRGLHGFHVHEYGDTSNCGTSAGEHFNPTNEDHGAPDAEIRHYGD	80
LdNPV	M--RAICVLSGD--ASCAVHFQDPTAAHPVRISGYVLGLPRGLHGFHVHEFGDASNGCTSAGEHFNPARRDHGAPDAEIRHYGD	80
OpNPV	M--KAICIVAGE--ASGRIYFKQAGDEPVSITGYLLNLPRGLHGFHVHEFGDTSNCGTSAGEHFNPTQRHIGAPDAAERHYGD	80
human	MATKAYCVLKGDPVQGIINFEQKESNGPVKVGSTIKGLTEGLHGFHVHEFGDNTAGCTSAGPHFNPLSRKHGGPKDEERHYGD	83
	LGNIKSVGYNSLTEINMMDNVMSLYGPHNIIGRSLVVHTDKDDLGLTEHPLSKTTGNSDGRLGCGIIAICK---	151
	LGNIKSVGYNSLTEINMMDNVMSLYGPHNIIGRSLVVHTDKDDLGLTEHPLSKTTGNSDGRLGCGIIAICK---	151
	LGNIKSAGYNSLTEVNMDNVMSLYGPHNIIGRSLVVHTDKDDLGLTDHPLSKTTGNSGGRLGCGIIAICK---	151
	LGNLESAGRDALTEVSLTDGVVSLYGPHSIIGRSI.VVHTDRDDLGLTDHPLSKTTGNSGGRLAGCIIGMRKPPD	154
	LGNVRSACCTALTAIHMSDNVITLFGPLSILGRSLVVHTDRDDLGLGEHPLSKTTGNSGGRLGCGIIGVC--AN	152
	LGNV--TADKIXVADVSIEDSVISLSDHCTIGRTL.VVHEKADDLGKGGNEESTKTGNAGSRLACGVIGI---AQ	154

图 7 五种 NPV 的 SOD 和人的 SOD1 氨基酸序列相互比较

Fig. 7 The alignment of 6 SOD amino acid sequences

比较 HcNPV *sod*、BmNPV *sod*、AcNPV *sod* 和人 *sod1* 基因的核苷酸序列, *sod1* 多 9 个核苷酸, 三种 NPV 在 ATG 后缺失两个氨基酸; 在 18 位和 25~29 位核苷酸缺失, 造成 5 个氨基酸的改变; *sod1* 在核苷酸的 161 位和 NPV *sod* 在 157 位各缺失一个核苷酸, 造成 4 个氨基酸的改变; NPV *sod* 在 297 位缺失二个核苷酸和 *sod1* 在 332 位缺失二个核苷酸, 造成 11 个氨基酸的改变。 *sod* 基因中这些氨基酸的改变对其功能的影响还不太清楚。

应用 Chou-Fasman 和 GOR 法分析表明, NPV 的 *sod* 不仅在一级结构上同源性较高, 而且在二级结构上也呈非常好的保守性。

2.6 进化分析

副溶血弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*) Mn-SOD (*sodA*)、酿脓链球菌 (*Streptococcus pyogenes*) Mn-SOD、脆弱拟杆菌 (*Bacteroides fragilis*) SOD、粗糙脉胞霉 (*Neurospora crassa*) Mn-SOD (*sod-2*)、产黄青霉 (*Penicillium chrysogenum*) Mn-SOD、*Legionella pneumophila* Fe-SOD、*Rhodobacter capsulatus* Fe-SOD、天蓝色链霉菌 (*Streptomyces coelicolor*) Fe/Zn-SOD (*sodF*)、*Glomerella cingulata* Cu/Zn-SOD (*sod1*)、马 (*Equus caballus*) Mn-

SOD、马(*Equus caballus*) Cu/Zn-SOD 等 *sod* 基因序列来自于 Gen Bank, 编号分别为 AF085191、AJ223292、D13756、AF118809、AF026523、D12922、AF022931、AF012087、AF076951、AB001693、AB001692, 对它们编码的 SOD 氨基酸序列, 应用 PC/gene(ver 6.8 Intekki Genekics) Clustal 程序进行进化分析(图 8)。结果表明, NPV 的 SOD 与人 SOD1、豌豆 SOD II、马 Cu/Zn-SOD 处于同一分支, 属于 Cu/Zn-SOD, 且 NPV SOD 在进化关系上与 *sod* 核苷酸序列分析的结果一致。图中另一组群反映的是其它 SOD(包括 Mn-SOD、Fe-SOD 等)的进化关系, 表明不同的 *sod* 基因在编码的氨基酸序列上具有明显差异, 在进化上起源不同。从分子水平研究杆状病毒的进化机制是杆状病毒研究的一个重要内容。张传溪等曾以杆状病毒的多角体蛋白基因(*ocu*)研究杆状病毒的进化关系<sup>[14]</sup>。NPV *sod* 是一个比较保守的基因, 它的保守性高于 *ocu* 基因。我们用 *sod* 基因研究了杆状病毒的亲缘关系, 与 NPV 的 *ocu* 在进化树中遗传关系上一致。

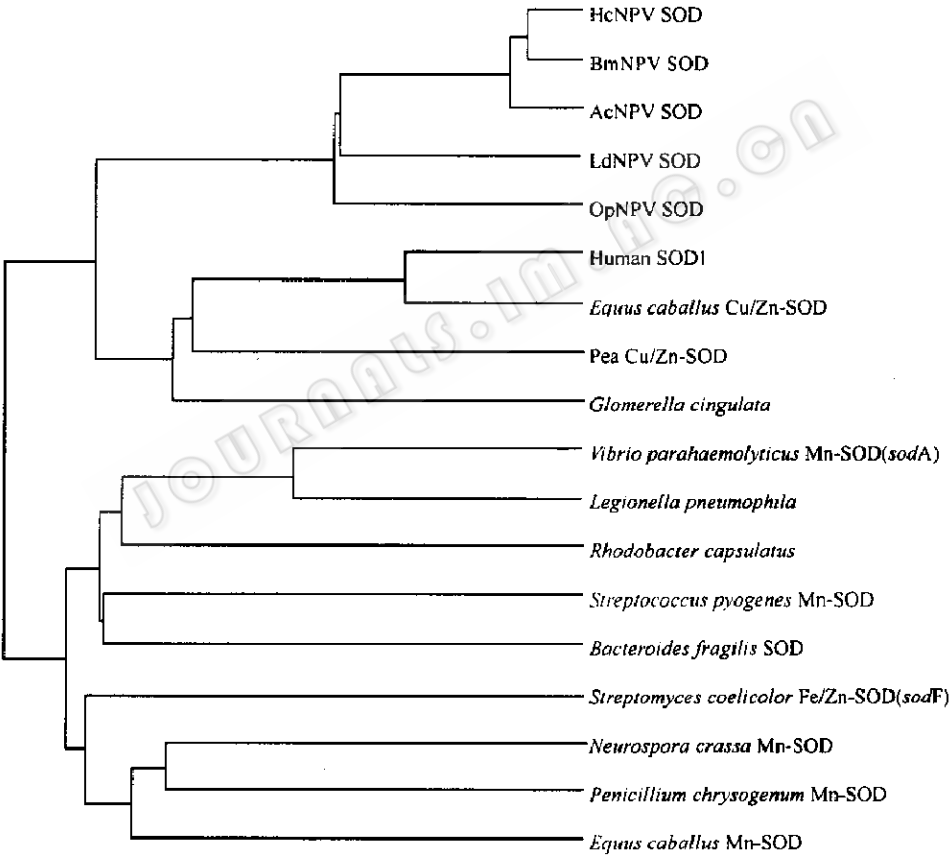


图 8 部分 SOD 聚类图  
Fig.8 Dendrogram of the SOD

当细胞受到电离辐射或外源异物侵入时,会产生大量的超氧阴离子,而超氧阴离子的存在,破坏膜的透性,降解染色体及其它具生物功能的物质,促使细胞程序性死亡,保护机体免受进一步侵害,可以看作是机体的保卫反应。*sod* 在 NPV 的转录时相上属于晚期基因,即病毒 DNA 复制起始后才转录和表达,因此推测 NPV 中 *sod* 基因的表达与病毒

DNA 的保护有关,并且可能与抗细胞的凋亡因子 P35(NPV 的早期基因表达产物)具有在病毒感染的不同时期抑制细胞凋亡的相似作用,从而达到增殖病毒粒子的目的。

SOD 清除超氧离子,形成  $H_2O$ ,  $H_2O_2$  能与超氧离子形成毒性更强的  $HO\cdot$ ,而过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)具有分解  $H_2O_2$  的功能,因此,清除自由基的过程是这些酶的级联反应过程,它们构成了一个完整的处理系统。NPV 中是否存在 CAT 和 POD 基因,还有待证实。

## 参 考 文 献

- [1] McCord J M, Irwin F. *J Bio Chem*, 1969, **244**(22): 6049~6055.
- [2] Susan S P, Edward D H. *Biochem J*, 1991, **274**: 153~158.
- [3] Goebel S P, Johnson G P, Paoletti E, *et al.* *Virology*, 1990, **179**: 247~266.
- [4] Tornalski M D, Eldridge R, Millar L K. *Virus*, 1991, **184**: 149~161.
- [5] 王文兵, 季 平, 吴 峻, 等. 生物化学与生物物理学报, 1999, **31**(4): 405~408.
- [6] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯. 分子克隆实验指南(第二版). 金冬雁等译. 北京: 科学出版社, 1992.
- [7] 谢卫华, 姚菊芳, 袁勤生. 医药工业, 1988, **19**(5): 217~219.
- [8] Isin S H, Burke J J, Allen R D. *Plant Mol Biol*, 1990, **15**: 789~791.
- [9] Richardson D C. The three-dimensional structure of Cu, Zn superoxide dismutase. In: Micherson A M, *et al.* Superoxide and superoxide dismutase. London: Academic press, 1977, 217~223.
- [10] Richardson J S, Thomas K A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, **72**: 1349~1353.
- [11] Malinowski D P, Fridovich I. *Biochemistry*, 1979, **18**: 5909~5917.
- [12] Abernethy J L, Steinman H M, Hill R L. *J Biol Chem*, 1974, **249**: 7339~7347.
- [13] Junichi F J, Teingi M. *Journal of Neurochemistry*, 1995, **64**(4): 1456~1461.
- [14] 张传溪, 贡成良, 胡 萃, 等. 浙江农业大学学报, 1999, **1**: 69~76.

## ANALYSIS AND EXPRESSION OF *HYPHANTRIA CUNEA* NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS *sod* GENE

Cao Guangli Xue Renyu Zhu Yuexiong Wei Yuhong Gong Chengliang

(Suzhou University Gene Lab., Suzhou 215151, China)

**Abstract:** The sequencing results indicated that *Hyphantria cunea* nuclear polyhedrosis virus (HcNPV) *sod* gene open reading frame of 456 nt encoding protein of 151 amino acid, was identified to that of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus (BmNPV), and exhibited 97.2% homology at nucleotide level to that of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV), three amino acid residues difference in amino acid level with AcNPV *sod*. The essential amino acid residues for the construction and active could be detected in HcNPV *sod*. Activity of the SOD is 147.09U per milliliter *E. coli*.

**Key words:** *Hyphantria cunea* nuclear polyhedrosis virus, Superoxide dismutase, Expression, Evolution analysis