

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2010-227246

(P2010-227246A)

(43) 公開日 平成22年10月14日(2010.10.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 L 27/00 (2006.01)	A 6 1 L 27/00	V 4 C 0 8 1
A 6 1 K 35/12 (2006.01)	A 6 1 K 35/12	4 C 0 8 7
A 6 1 P 41/00 (2006.01)	A 6 1 P 41/00	

審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 16 頁)

(21) 出願番号 特願2009-77384 (P2009-77384)
 (22) 出願日 平成21年3月26日 (2009. 3. 26)

(71) 出願人 504179255
 国立大学法人 東京医科歯科大学
 東京都文京区湯島 1-5-4 5
 (74) 代理人 100106002
 弁理士 正林 真之
 (72) 発明者 岸田 晶夫
 東京都文京区湯島 1 丁目 5 番 4 5 号 国立
 大学法人東京医科歯科大学内
 (72) 発明者 木村 剛
 東京都文京区湯島 1 丁目 5 番 4 5 号 国立
 大学法人東京医科歯科大学内
 (72) 発明者 船本 誠一
 東京都文京区湯島 1 丁目 5 番 4 5 号 国立
 大学法人東京医科歯科大学内

最終頁に続く

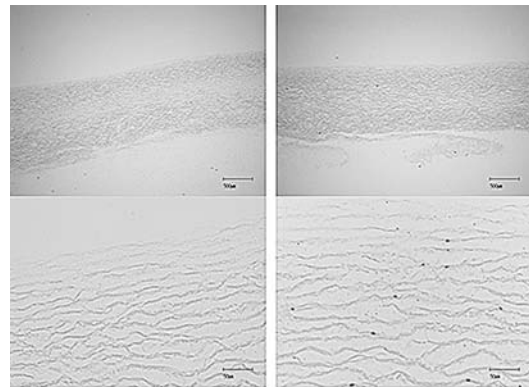
(54) 【発明の名称】 脱細胞化生体組織の調製方法

(57) 【要約】

【課題】石灰化の発生を抑制できる脱細胞化生体組織の調製方法、該脱細胞化生体組織の調製方法に用いる洗浄液、並びにこの脱細胞化生体組織を備える移植片を提供すること。

【解決手段】単離された生体組織内の細胞を破壊した後に、前記生体組織内の破壊された細胞を、リン酸イオンの含有量が 2 . 0 mm o l / L 以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を含有する緩衝液により除去する。

【選択図】 図 1



実施例1

実施例2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

動物由来の生体組織が脱細胞化された脱細胞化生体組織の調製方法であって、
単離された生体組織内の細胞を破壊する破壊手順と、
破壊された細胞を、リン酸イオンの含有量が 2.0 mmol/L 以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を含有する緩衝液により除去する除去手順と、を含む脱細胞化生体組織の調製方法。

【請求項 2】

前記緩衝液として、クエン酸、及びクエン酸の生理的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を含有するものを用いる請求項 1 に記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

10

【請求項 3】

前記緩衝液として、さらに、塩化ナトリウム及び D - グルコースを含有するものを用いる請求項 1 又は 2 に記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【請求項 4】

前記緩衝液として、界面活性剤を実質的に含まないものを用いる請求項 1 から 3 のいずれかに記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【請求項 5】

前記破壊手順は、前記生体組織に超高静水圧を印加する手順を有する請求項 1 から 4 のいずれかに記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

20

【請求項 6】

前記超高静水圧は、 1000 気圧以上である請求項 5 に記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【請求項 7】

前記破壊手順と前記除去手順との間に、前記生体組織を有機溶媒又は有機溶媒の水溶液に接触させる手順を含む請求項 1 から 6 のいずれかに記載の脱細胞化組織の調製方法。

【請求項 8】

前記有機溶媒が低級アルコールを含む請求項 7 に記載の脱細胞化組織の調製方法。

【請求項 9】

前記生体組織を有機溶媒又は有機溶媒の水溶液に接触させる手順を含まない請求項 1 から 6 のいずれかに記載の脱細胞化組織の調製方法。

30

【請求項 10】

単離された生体組織内の破壊された細胞を除去するために用いる洗浄液であって、
リン酸イオンの含有量が 2.0 mmol/L 以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を含有する洗浄液。

【請求項 11】

前記洗浄液が、クエン酸、及びクエン酸の生理的に許容される塩からなる群より選択される 1 種以上の化合物を含有する請求項 10 に記載の洗浄液。

40

【請求項 12】

前記洗浄液が、さらに、塩化ナトリウム及び D - グルコースを含有する請求項 10 又は 11 に記載の洗浄液。

【請求項 13】

動物に移植される移植片であって、
請求項 1 から 9 のいずれかに記載の調製方法で調製された脱細胞化生体組織を備える移植片。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

本発明は、動物由来の生体組織を脱細胞化する脱細胞化生体組織の調製方法、該脱細胞化生体組織の調製方法に用いる洗浄液、及びこの脱細胞化生体組織を備える移植片に関する。

【背景技術】

【0002】

他人の生体組織由来の移植片を移植する場合、被移植者側組織による移植片の拒絶反応が問題である。そこで、このような問題の解決手段として、人工組織の開発が待望されている。

【0003】

人工組織の素材としては、種々の合成高分子が試みられている。しかし、これら素材と生体組織との適合性が低いため、移植片と生体組織との接合部位における脱落や感染症が発生する場合がある。

【0004】

そこで、生体組織との適合性を向上するべく、生体組織から細胞を除去して残存する支持組織である脱細胞化生体組織を、移植片として使用する技術が近年開発された。細胞成分の除去、つまり脱細胞化は、まず、界面活性剤を含有する処理液を用いて生体組織を処理したり、生体組織に超高静圧を印加したりすることで細胞を破壊し、次に破壊した細胞を生体組織から除去することで行われる（特許文献1、2、及び3を参照）。従来、細胞を除去するための洗浄液としては、PBS（リン酸緩衝化生理食塩水）等のリン酸イオンを含有する緩衝液が使用されている（特許文献3を参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】特表2005-514971号公報

【特許文献2】特表2006-507851号公報

【特許文献3】特表2005-531355号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、従来の洗浄液を用いて洗浄した生体組織は、何らかの理由により、生体への移植後、経時的に石灰化を生じやすいという問題がある。

【0007】

本発明は、以上の実情に鑑みてなされたものであり、石灰化の発生を抑制できる脱細胞化生体組織の調製方法、該脱細胞化生体組織の調製方法に用いる洗浄液、並びにこの脱細胞化生体組織を備える移植片を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、動物由来の生体組織中の細胞を破壊する手順を含む脱細胞化生体組織の調製方法において、細胞を破壊する手順の後に、リン酸イオンの含有量が2.0mmol/L以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（以下、EDTAとも記す。）、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する緩衝液により脱細胞化生体組織をさらに洗浄することによって、高い効率での石灰化の抑制を実現できることを見出し、本発明を完成するに至った。具体的には、本発明は以下のようなものを提供する。

【0009】

（1）動物由来の生体組織が脱細胞化された脱細胞化生体組織の調製方法であって、単離された生体組織内の細胞を破壊する破壊手順と、破壊された細胞を、リン酸イオンの含有量が2.0mmol/L以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する緩衝液により除去する手順と、を含む脱細胞化生体組織の

10

20

30

40

50

調製方法。

【0010】

(2) 前記緩衝液として、クエン酸、及びクエン酸の生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有するものを用いる(1)に記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【0011】

(3) 前記緩衝液として、さらに、塩化ナトリウム及びD-グルコースを含有するものを用いる、(1)又は(2)のいずれかに記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【0012】

(4) 前記緩衝液として、界面活性剤を実質的に含まないものを用いる、(1)から(3)のいずれかに記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

10

【0013】

(5) 前記破壊手順は、前記生体組織に超高静水圧を印加する手順を有する、(1)から(4)のいずれかに記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【0014】

(6) 前記超高静水圧は、1000気圧以上である(5)に記載の脱細胞化生体組織の調製方法。

【0015】

(7) 前記破壊手順と、前記除去手順との間に、前記生体組織を有機溶媒又は有機溶媒の水溶液に接触させる手順を含む、(1)から(6)のいずれかに記載の脱細胞化組織の調製方法。

20

【0016】

(8) 前記有機溶媒が低級アルコールを含む(7)に記載の脱細胞化組織の調製方法。

【0017】

(9) 前記生体組織を有機溶媒又は有機溶媒の水溶液により接触させる手順を含まない、(1)から(6)のいずれかに記載の脱細胞化組織の調製方法。

【0018】

(10) 単離された生体組織内の破壊された細胞を除去するために用いる洗浄液であって、

リン酸イオンの含有量が 2.0 mmol/L 以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する洗浄液。

30

【0019】

(11) 前記洗浄液が、クエン酸、及びクエン酸の生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する(10)に記載の洗浄液。

【0020】

(12) 前記洗浄液が、さらに、塩化ナトリウム及びD-グルコースを含有する(10)又は(11)に記載の洗浄液。

【0021】

(13) 動物に移植される移植片であって、
(1)から(9)のいずれか記載の調製方法で調製された脱細胞化生体組織を備える移植片。

40

【発明の効果】

【0022】

本発明によれば、生体組織内を脱細胞化する際に、石灰化の発生を抑制できる脱細胞化生体組織を調製することが可能となる。さらに本発明の方法により得られる脱細胞化生体組織は移植片としても有用である。

【図面の簡単な説明】

【0023】

【図1】本発明の実施例1及び2により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を

50

示す図である。

【図2】本発明の実施例3及び4により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を示す図である。

【図3】本発明の実施例5及び6により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を示す図である。

【図4】本発明の実施例7及び8により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を示す図である。

【図5】本発明の比較例1及び2により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を示す図である。

【図6】本発明の比較例3及び4により得られた脱細胞化生体組織の石灰化の観察結果を示す図である。

10

【発明を実施するための形態】

【0024】

以下、本発明の実施形態について説明するが、本発明を限定することを意図するものではない。

【0025】

<調製方法>

本発明の脱細胞化生体組織の調製方法は、生体組織内の細胞を破壊する破壊手順と、リン酸イオンの含有量が 2.0 mmol/L 以下であり、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する緩衝液により除去する、除去手順とを含む。

20

【0026】

[破壊手順]

生体組織内の細胞を破壊する手順としては、良好に細胞が破壊される限り特に制限されず、従来知られる方法により行えばよい。

【0027】

細胞破壊手順に供される動物由来の生体組織の例としては、角膜、軟骨、気管、心膜、羊膜、及び皮膚等の軟組織、心筋等の嵩高い組織や骨等の硬組織が挙げられる。

【0028】

生体組織内の細胞を破壊する好適な手順の具体例としては、

30

1) 動物由来の生体組織を、SDS、Triton X-100(登録商標)、PEG、PEO等の人工化合物や、コール酸ナトリウム等の生体由来の化合物から選択される界面活性剤を含有する洗浄液により生体組織を洗浄する方法、又は、2) 動物由来の生体組織に超高静水圧を印加する方法が挙げられる。

【0029】

これらの方法のなかでは、条件によって生体組織中の細胞やウイルスを破壊することが可能であることや、界面活性剤等の生体組織への残留の問題が無いこと等から、2)の超高静水圧を印加する方法を用いるのがより好ましい。

【0030】

2)の超高静水圧を印加する方法についてより具体的に説明する。

40

生体組織内の細胞を破壊する際の超高静水圧としては、 1000 気圧以上であることが好ましく、生体組織内の細菌を破壊できる点で 4000 気圧以上であることがより好ましく、ウイルスを破壊できる点で 6000 気圧以上であることがさらに好ましい。

【0031】

超高静水圧の印加は媒体中で行い、媒体としては水や水溶性多糖の水溶液を用いることができる。動物由来の生体組織が、例えば、角膜、軟骨、気管、心膜、羊膜、及び皮膚等の軟組織である場合には、媒体として水溶性多糖の水溶液を用いるのが好ましい。水溶性多糖の水溶液を媒体に用いることにより、超高静水圧の印加後の軟組織の膨潤を大幅に抑制することができるからである。

【0032】

50

媒体として用いる水溶性多糖の水溶液に使用する、水溶性多糖の好ましい例としては、デキストラン、アルギン酸、ヒアルロン酸、トレハロース、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン、ポリビニルピロリドンが挙げられる。これら水溶性多糖は、1種単独で又は複数種を混合して使用されてよい。

【0033】

媒体として水溶性多糖の水溶液を用いる場合の水溶性多糖の濃度は、印加される超高静水圧値、使用される軟組織の種類等に応じ、許容される範囲内に膨潤度を制限できるように適宜設定されてよい。

【0034】

具体的な超高静水圧の印加の手順としては、例えば、まず、水不透過性フィルムの袋内に媒体を満たし、媒体に動物由来の生体組織を湿潤させる。そして、内部に気体が残留しないように留意しつつ、袋を厳重に密閉する。この袋を、超高静水圧処理装置（例えば、「Dr. CHEF（型式）」（神戸製鋼所社製））のチャンパー内に設置し、装置を作動させればよい。超高静水圧の印加時間は、細胞良好に破壊される限り特に限定されず、通常10～30分程度であり、印加時の媒体温度は通常25～40℃、好ましくは30℃付近である。

10

【0035】

[除去手順]

上記方法により生体組織中の細胞を破壊した後には、除去手順を行う事前に、生体組織に影響を与えない有機溶媒又は有機溶媒の水溶液と、細胞を破壊された生体組織を浸漬等の方法により接触させて処理してもよい。後述する緩衝液での洗浄時に、破壊された細胞の除去が容易になるためである。前記の有機溶媒としては、エタノール、イソプロパノール等の低級アルコール、グリセリン、又はこれらの水溶液等が好ましく、接触させた後に生体組織から除去しやすいことからエタノール又はその水溶液を用いるのがより好ましい。

20

【0036】

また、有機溶媒又は有機溶媒の水溶液と細胞を破壊された生体組織を接触させる手順を含まない態様も、脱細胞化組織の調製方法として好ましい。生体組織の洗浄にエタノール等を用いた場合には、凍結乾燥等の方法により洗浄後の生体組織からエタノール等を完全に除去する必要があることや、生体組織に残留するエタノール等の量を分析する必要が生じる等から、凍結乾燥装置や残留溶媒の分析装置等の高価な装置を必要とし、脱細胞化組織の調製のための作業量が増加するからである。

30

【0037】

前記の破壊手順において、破壊された生体組織内の細胞は、除去手順により生体組織から除去される。除去手順においては、リン酸イオンの含有量が2.0 mmol/L以下であり、クエン酸、EDTA、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を含有する緩衝液により、生体組織中の破壊された細胞を洗浄する。前記緩衝液はリン酸イオンを実質的に含有しないことがより好ましい。リン酸イオンを実質的に含有しないとは、僅少量のリン酸イオンが不可避免的に混入した場合や迂回目的で僅少量を含有させた場合を包含し、リン酸イオンの含有量が1.0 mmol/L以下、より具体的には0.7 mmol/L以下、さらに具体的には0 mmol/Lである。

40

【0038】

生体組織中の破壊された細胞の洗浄に用いる前記緩衝液中のリン酸イオンの含有量は、イオンクロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動法、原子吸光法、モリブデンブルー法等の公知の方法により測定することができる。

【0039】

本発明においては、細胞を破壊された生体組織を、リン酸イオンの含有量が2.0 mmol/L以下と非常に少なく、且つ、クエン酸、EDTA、及びこれらの生理的に許容される塩等のカルシウム等の金属イオンをキレートする効果のある化合物を含む緩衝液を用いて洗浄することにより、脱細胞化生体組織の石灰化を著しく抑制することが可能となる

50

。

【0040】

ここで生理的に許容される塩の例としては、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、アルギニン、リジン、ヒスチジン、及びオルニチン等のアミノ酸塩、アンモニウム塩、各種有機塩基の塩等が挙げられ、これらの中では、入手が容易で、脱細胞化生体組織に残留した場合の問題がより少ないことからナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩であるのがより好ましい。

【0041】

緩衝液中の、クエン酸、EDTA、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物の濃度は、通常緩衝液として使用される溶液の濃度であり、本発明の効果を損なわないものであれば特に制限されないが、通常0.1~100mmol/L、より好ましくは0.1~70mmol/Lである。

10

【0042】

緩衝液中に含まれる化合物としては、脱細胞化生体組織に残留した場合の問題がより少ないこと等からクエン酸、及びクエン酸の生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物を用いるのがより好ましい。

【0043】

緩衝液は、クエン酸、EDTA、及びこれらの生理的に許容される塩からなる群より選択される1種以上の化合物の他に、塩化ナトリウム、及びD-グルコースを含むものがより好ましい。緩衝液が、塩化ナトリウム及びD-グルコースを含むものである場合には、塩化ナトリウムの緩衝液中の濃度は好ましくは0.1~10g/L、より好ましくは0.5~5g/Lであり、D-グルコースの濃度は好ましくは1~50g/L、より好ましくは5~30g/Lである。これらの緩衝液の中で特に好ましく用いられるものとしては、特定量のクエン酸、クエン酸塩、塩化ナトリウム、及びD-グルコースを含有する緩衝液であるAlsever's液が挙げられる。

20

【0044】

以上説明した、本発明において脱細胞化された生体組織の洗浄に用いる緩衝液は、得られる脱細胞化生体組織の石灰化を生じ難くするために、実質的に界面活性剤を含まないものを用いるのが好ましい。

【0045】

生体組織中の破壊された細胞の除去は、細胞を破壊された生体組織を上記の緩衝液に浸漬することにより行われる。緩衝液に浸漬する処理温度は通常25~40℃であり、37℃付近がより好ましい。緩衝液に浸漬する処理時間は破壊された細胞の除去が良好に行われる限り特に制限されないが、通常1~7日、より好ましくは3日程度である。

30

【0046】

このようにして調製される脱細胞化生体組織の保存方式は、滅菌状態である限り特に限定されず、冷凍状態、液体内での湿潤状態、又は乾燥状態であってよい。

【0047】

<移植片>

このように調製される脱細胞化生体組織は、動物に移植される移植片の構成物として有用である。即ち、本発明の移植片は、前述の脱細胞化生体組織を備える。

40

【実施例】

【0048】

<実施例1~8、及び比較例1~2>

[破壊手順]

食用ブタ養殖場からブタ由来の大動脈を購入し、4℃にて搬送した。この大動脈を1cmずつに輪切りし、Alsever's液5mlが満たされたポリエチレン製フィルムの袋内に湿潤させた。この袋を、「Dr. CHEF」(神戸製鋼所社製)のチャンパー内に載置し、温度を30℃に保持しつつ、10000気圧の静水圧を10分間印加した。この間、昇圧及び降圧速度がそれぞれ666気圧/分となるように、「Dr. CHEF」を制

50

御した。印加後の大動脈（生体組織）を清潔操作で取り出した。

【0049】

[除去手順]

破壊手順により得られた生体組織を、約100mLのEBM-2にDNase(4mg/ml、ロシュ・ダイアグノスティクス(株))500μLを加えたものに37で14日間浸漬して生体組織の洗浄を行った。

【0050】

次いで、所望により、濃度80重量%のエタノール水溶液(Alsever's液を用いてエタノールを希釈して調製)約100mLに生体組織を37で3日間浸漬して洗浄を行った後、表1に示す緩衝液約100mLに37で3日間浸漬処理を行った。

10

【0051】

[石灰化の観察]

破壊手順及び除去手順を経て得られた脱細胞化生体組織を、FBS(インビトロジェン(株))に10日間浸漬した後に、コッサ染色を行ない、顕微鏡により石灰化により発生する脱細胞化生体組織内の黒点を観察し、石灰化の程度を比較した。

【0052】

実施例1~8、及び比較例1~4におけるEBM浸漬処理後の処理条件及び石灰化の観察結果を表1に記す。

【0053】

【表1】

20

	エタノール 洗浄	緩衝液	石灰化 (Ca沈着)
実施例1	有	Alsever's*1	なし
実施例2	無	Alsever's*1	極わずかに有
実施例3	有	PBS/Alsever's混合液*2	わずかに有
実施例4	無	PBS/Alsever's混合液*2	極わずかに有
実施例5	有	生理食塩水+クエン酸*3	極わずかに有
実施例6	無	生理食塩水+クエン酸*3	わずかに有
実施例7	有	生理食塩水+EDTA*4	なし
実施例8	無	生理食塩水+EDTA*4	極わずかに有
比較例1	有	PBS*5	激しい
比較例2	無	PBS*5	激しい
比較例3	有	生理食塩水	激しい
比較例4	無	生理食塩水	激しい

30

【0054】

*1: Alsever's液(Sigma-Aldrich社、組成: 塩化ナトリウム4.2g/L、クエン酸三ナトリウム二水和物8.0g/L、クエン酸一水和物0.55g/L、D-グルコース20.5g/L。)

*2: PBS/Alsever's混合液(PBS: Alsever's液を1:9(体積比)で混合したもの。リン酸イオン濃度0.66mmol/L。)

*3: 生理食塩水+クエン酸(クエン酸濃度41.6mmol/L。)

*4: 生理食塩水+EDTA(二ナトリウム塩)(EDTA濃度5.9mmol/L)

*5: PBS(組成: 塩化ナトリウム9000mg/L、リン酸一水素ナトリウム(無水)800mg/L、リン酸二水素カリウム(無水)144mg/L。リン酸イオン濃度6.65)

40

【0055】

表1及び図5から6に示されるように、6.65mmol/Lと多量のリン酸イオンを含むPBSや、リン酸イオンを含まないがクエン酸やEDTA等も含まない生理食塩水を緩衝液として用いた比較例1から4により得られた脱細胞化生体組織では、激しい石灰化

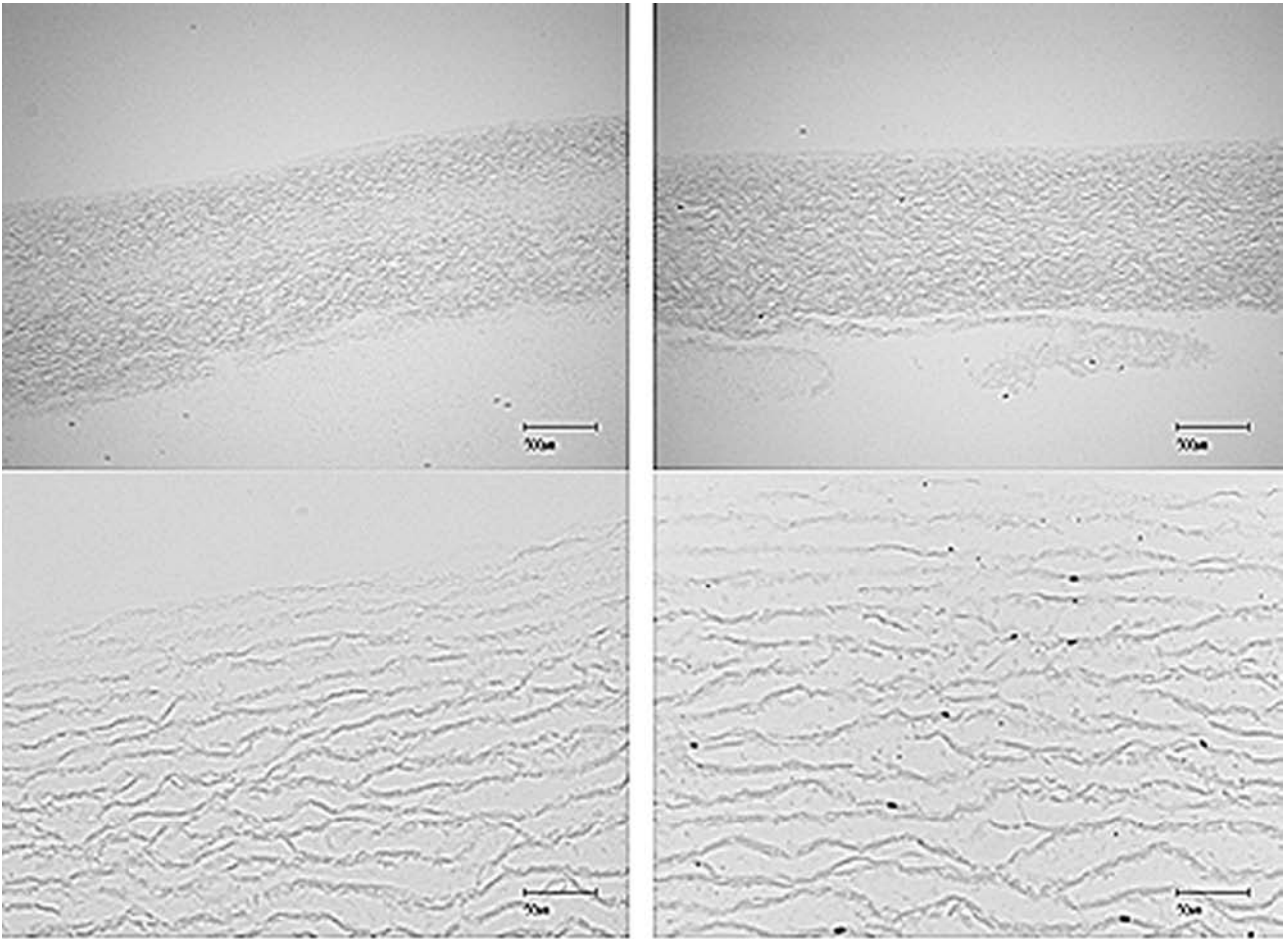
50

が起きていることがわかる。

【 0 0 5 6 】

一方、表 1 及び図 1 から 4 に示されるように、リン酸イオンを少量含むか全く含まず、クエン酸、EDTA、及びその塩から選択される化合物を特定量含有する緩衝液を用いた実施例 1 から 8 により得られた脱細胞化生体組織では、石灰化は生じないか、生じてもわずかなものであることがわかる。

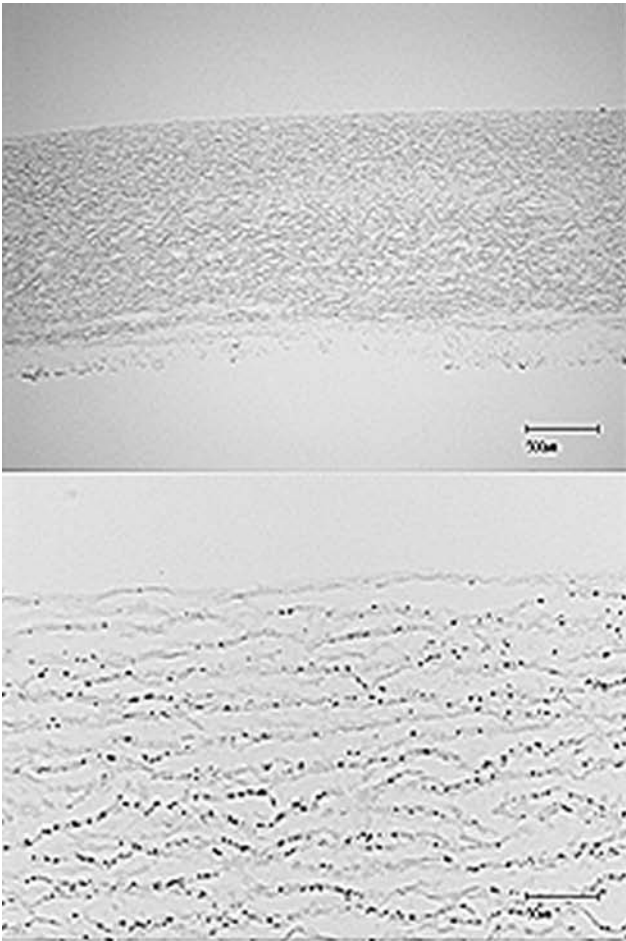
【 図 1 】



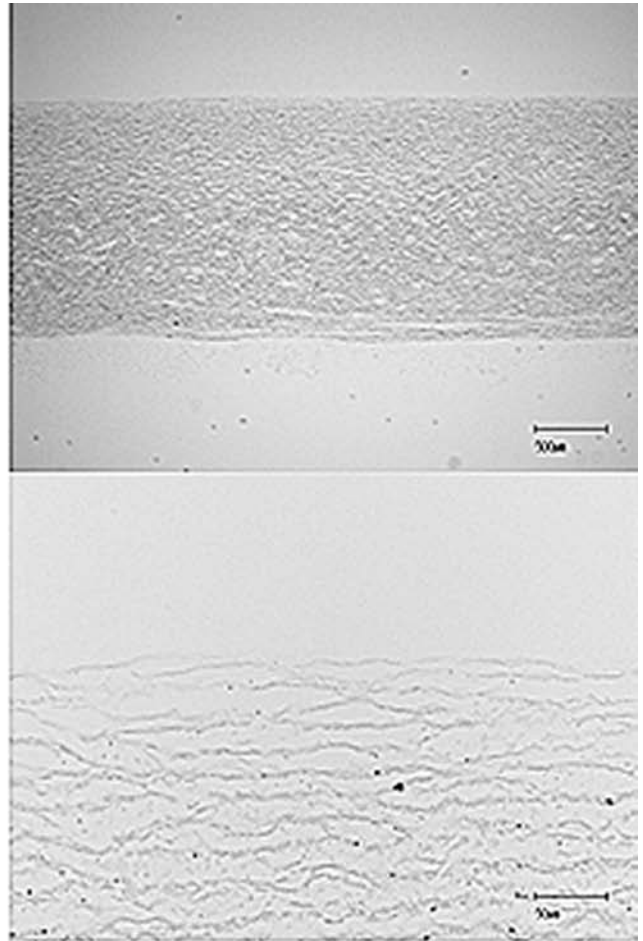
実施例1

実施例2

【 図 2 】

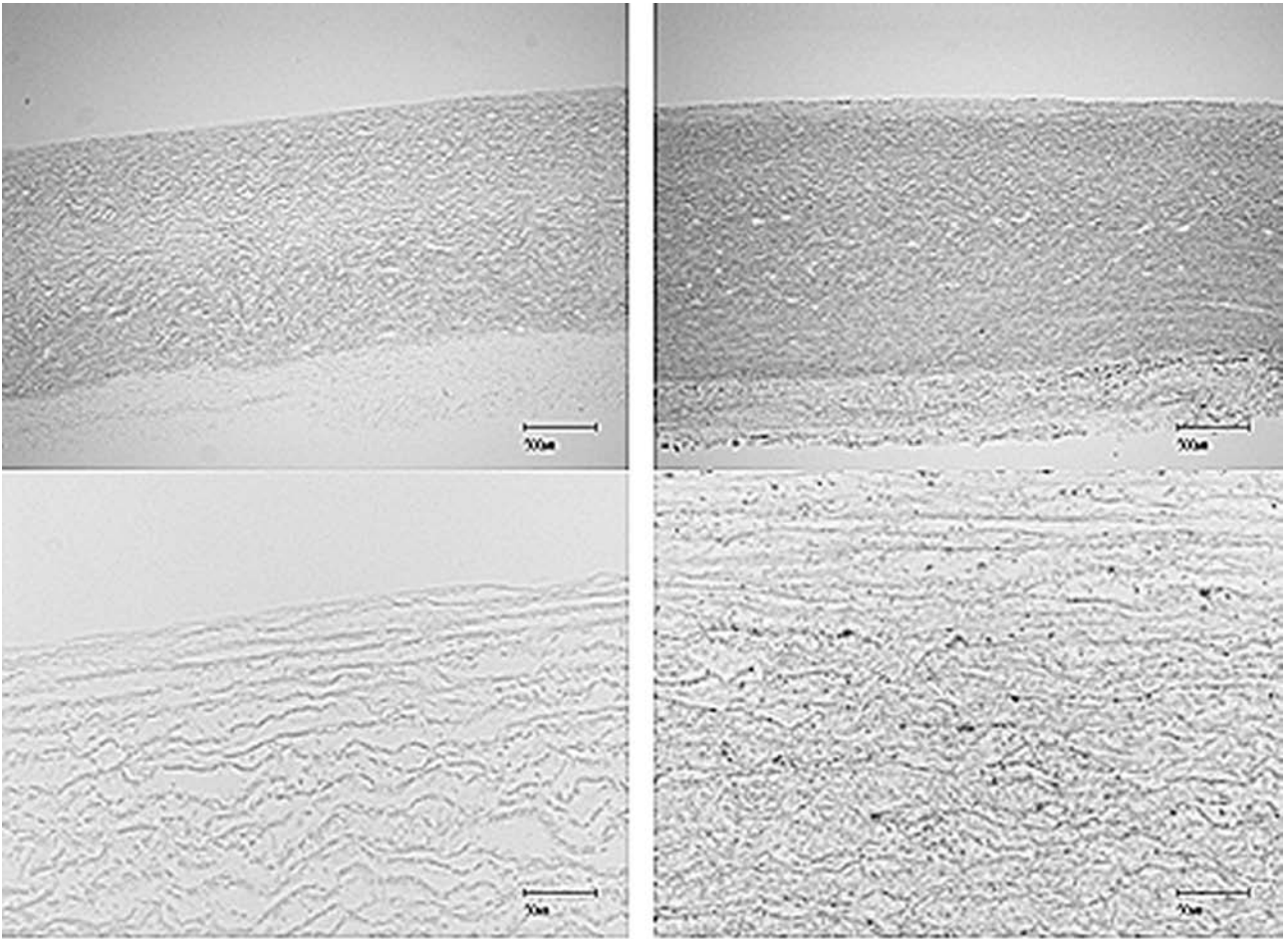


実施例3



実施例4

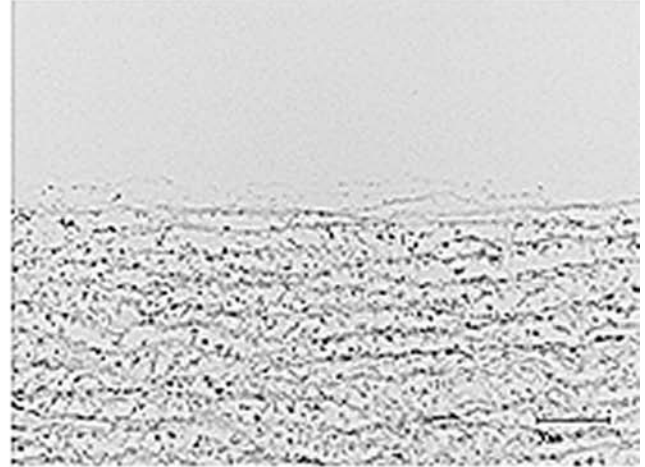
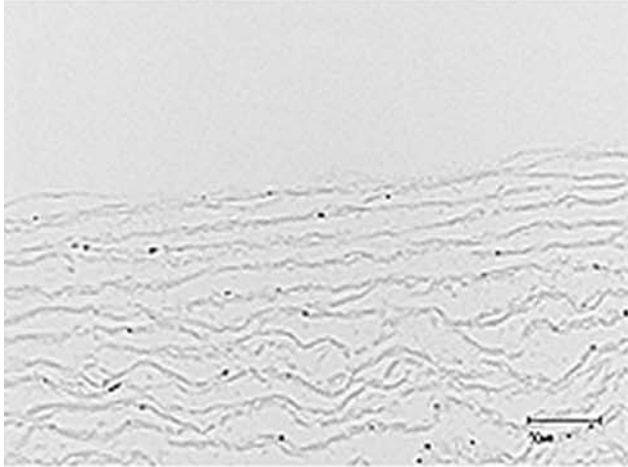
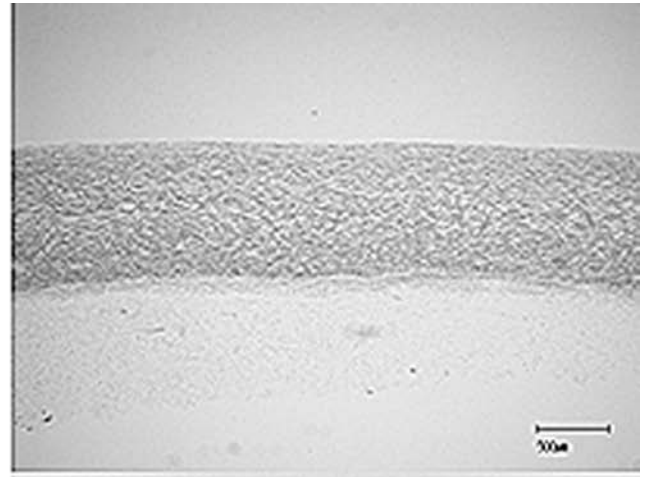
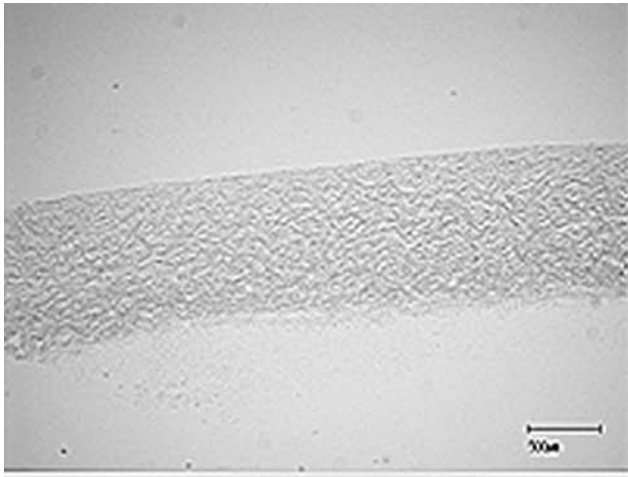
【 図 3 】



実施例5

実施例6

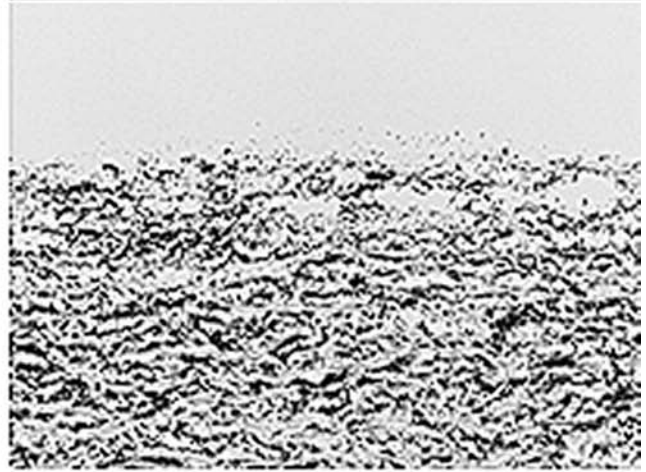
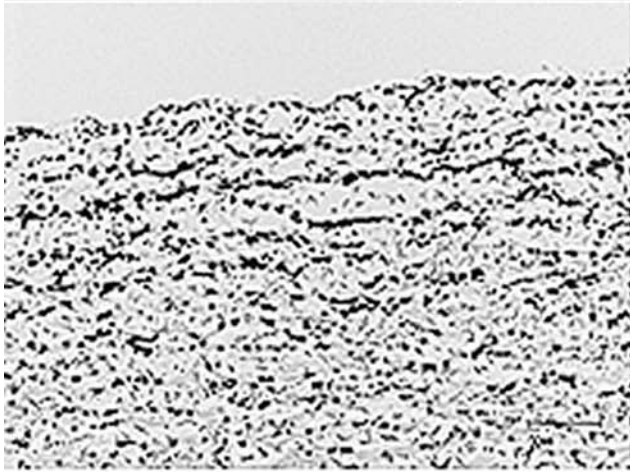
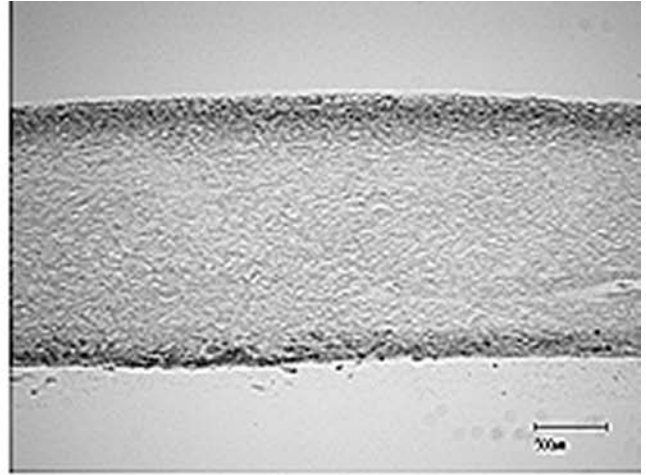
【 図 4 】



実施例7

実施例8

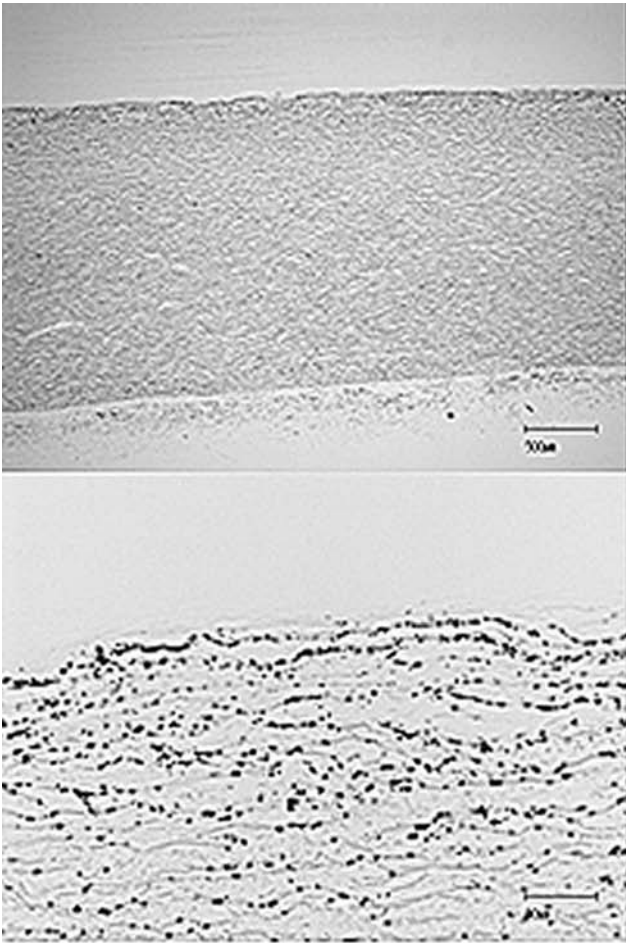
【 図 5 】



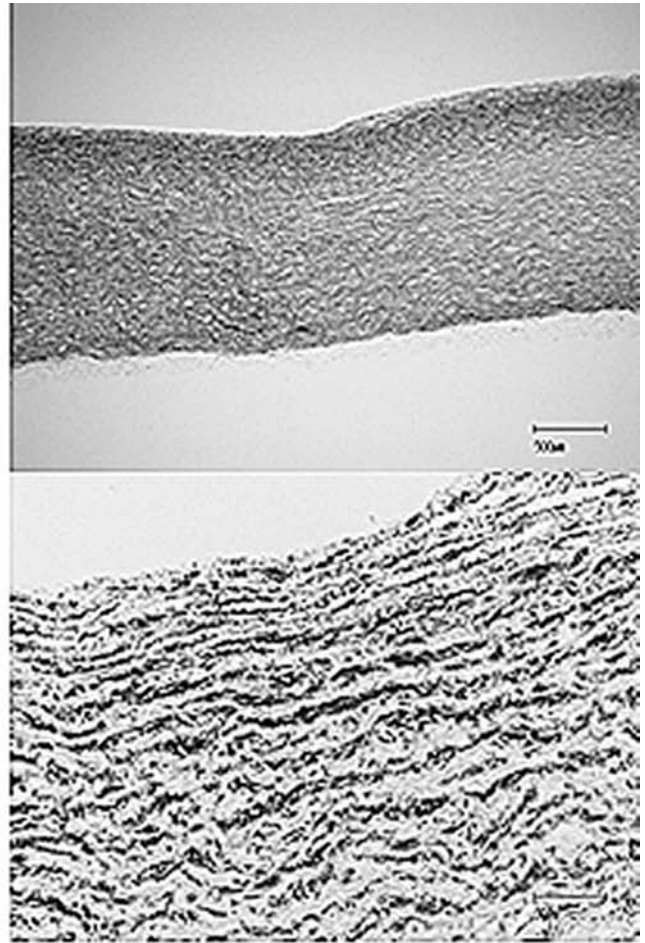
比較例1

比較例2

【 図 6 】



比較例3



比較例4

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C081 AB11 BA12 BA13 BB08 CD34 EA02 EA11
4C087 AA01 AA03 BB63 CA03 NA14 ZA31