

# Jak działają geny

---

Podstawy biologii molekularnej genu

# Uniwersalność życia

---

- Podstawowe mechanizmy są takie same u wszystkich znanych organizmów
  - budowa DNA i RNA
  - kod genetyczny
  - repertuar aminokwasów budujących białka
  - podstawy metabolizmu
  - budowa błon komórkowych
- Wyjaśnienie – pochodzą od jednego wspólnego przodka wszystkich żyjących obecnie organizmów

# Organizmy modelowe

---



*“Les éléments vitaux étant de nature semblable dans tous les êtres vivants, ils sont soumis aux mêmes lois organiques...”*

“Podstawowe jednostki życia, mając u wszystkich żyjących istot podobną naturę, rządzone są tymi samymi prawami organicznymi...”

Claude BERNARD (1813-1878)

# Podstawowe pojęcia

---

- **Informacja genetyczna**

Przekazywana z podziałem komórki informacja umożliwiająca odtworzenie całej struktury komórkowej.

- **Materiał genetyczny**

Nośnik fizyczny informacji genetycznej. W komórkach jest nim DNA.

- **Kod genetyczny**

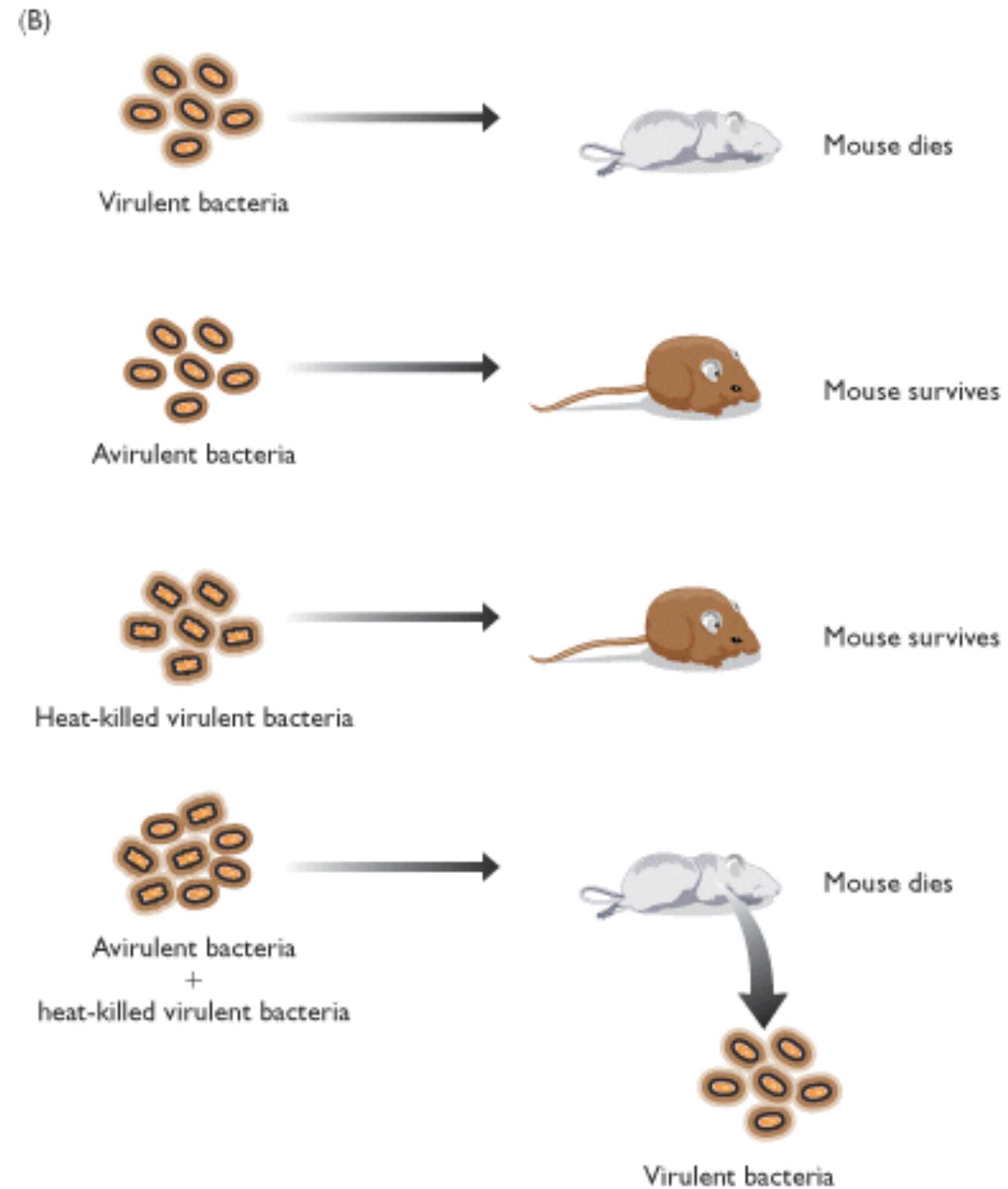
Mechanizm przełożenia informacji genetycznej zapisanej w sekwencjach DNA i RNA na sekwencję aminokwasową białka. Zasadniczo taki sam u wszystkich organizmów żywych.

# Zarys biologii molekularnej genu

---

- Podstawowe procesy genetyczne
  - **Replikacja** – powielanie informacji
  - **Ekspresja** – wyrażanie (realizowanie funkcji) informacji
    - Konieczna regulacja z udziałem niestabilnego pośrednika - RNA

# Materiał genetyczny

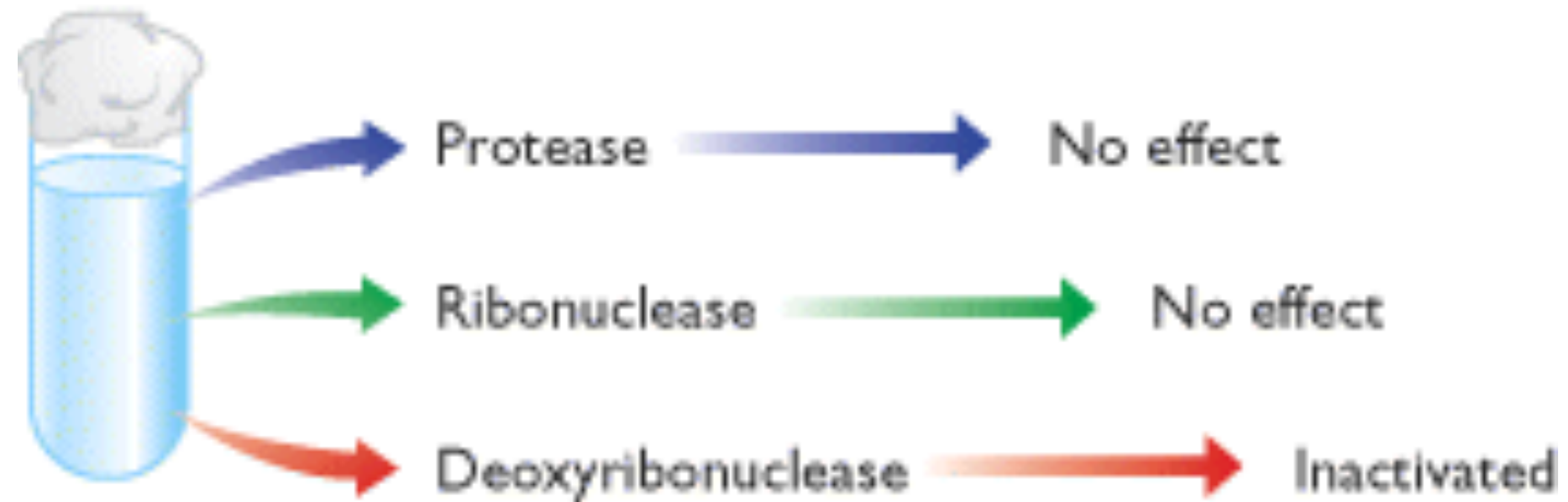


Bakterie zawierają „czynnik transformujący, zdolny do przekazania informacji z martwych bakterii do żywych

Frederick Griffiths, 1928

# DNA

---



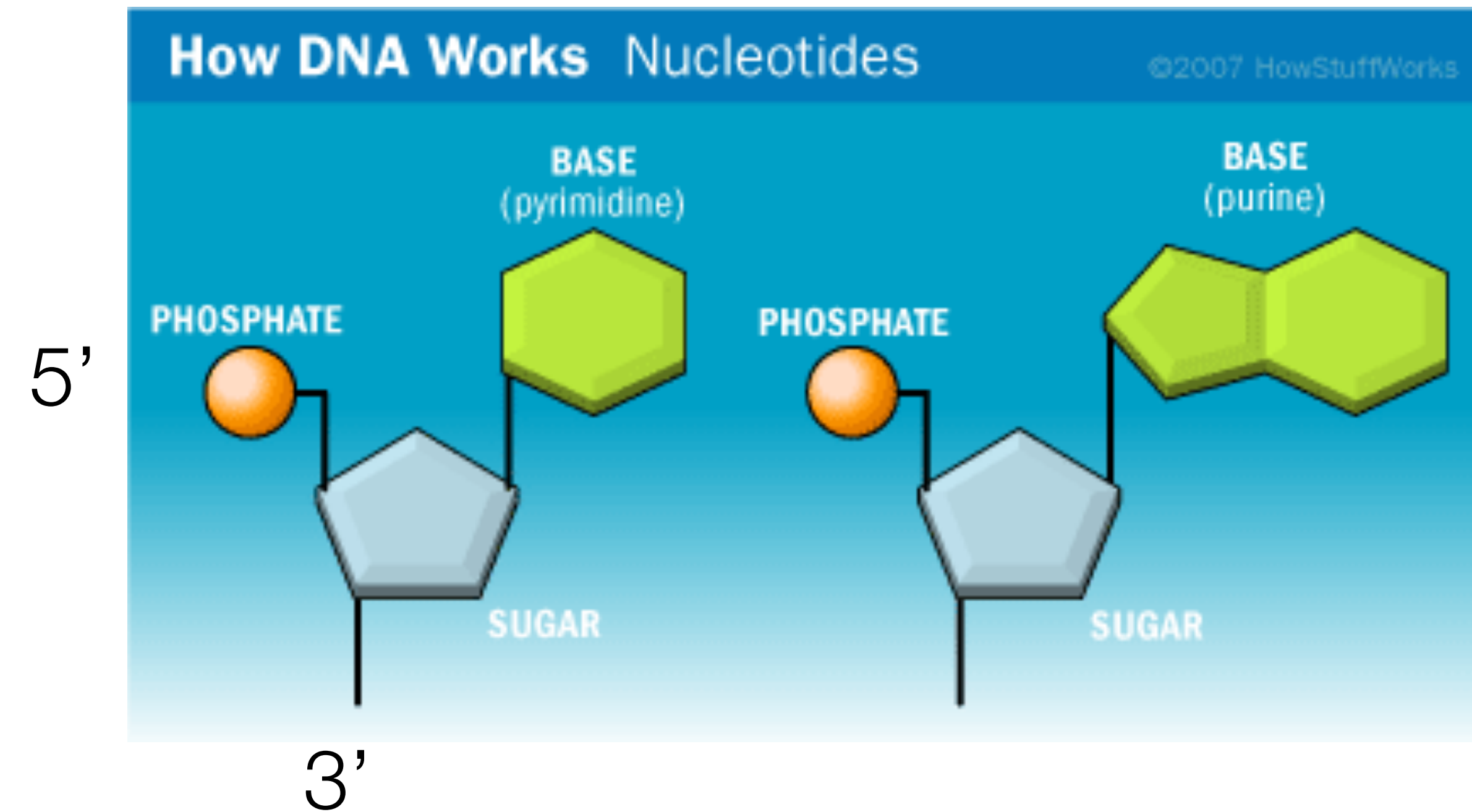
Czynnikiem transformującym jest DNA

Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty, 1943

# Materiał genetyczny

---

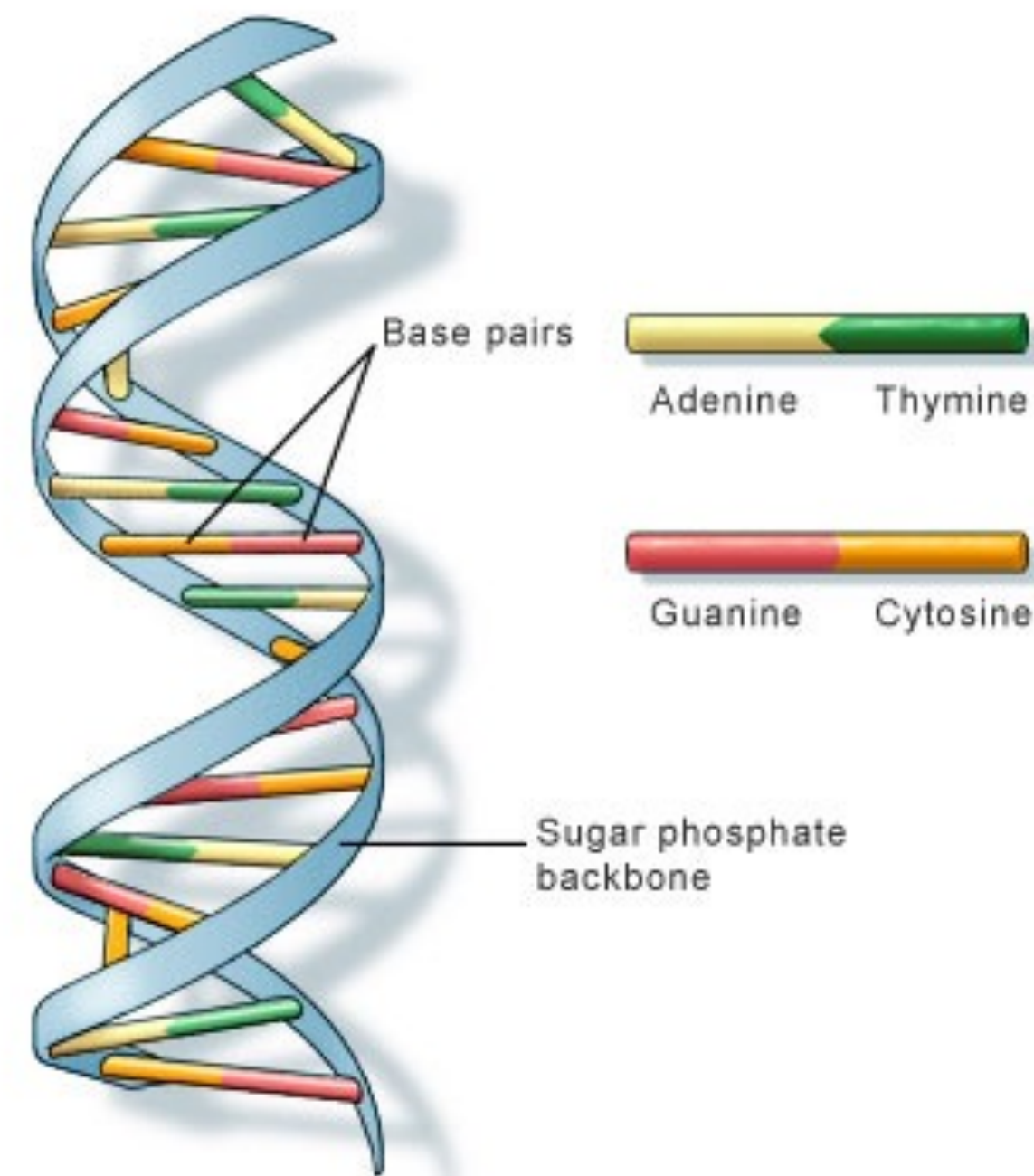
- Materiałem genetycznym są kwasy nukleinowe
- Materiałem genetycznym organizmów komórkowych jest kwas deoksyrybonukleinowy (DNA)
- DNA zbudowany jest z nukleotydów
- 4 rodzaje nukleotydów (A, T, G, C) - ich kolejność (sekwencja) to sposób zapisu informacji genetycznej



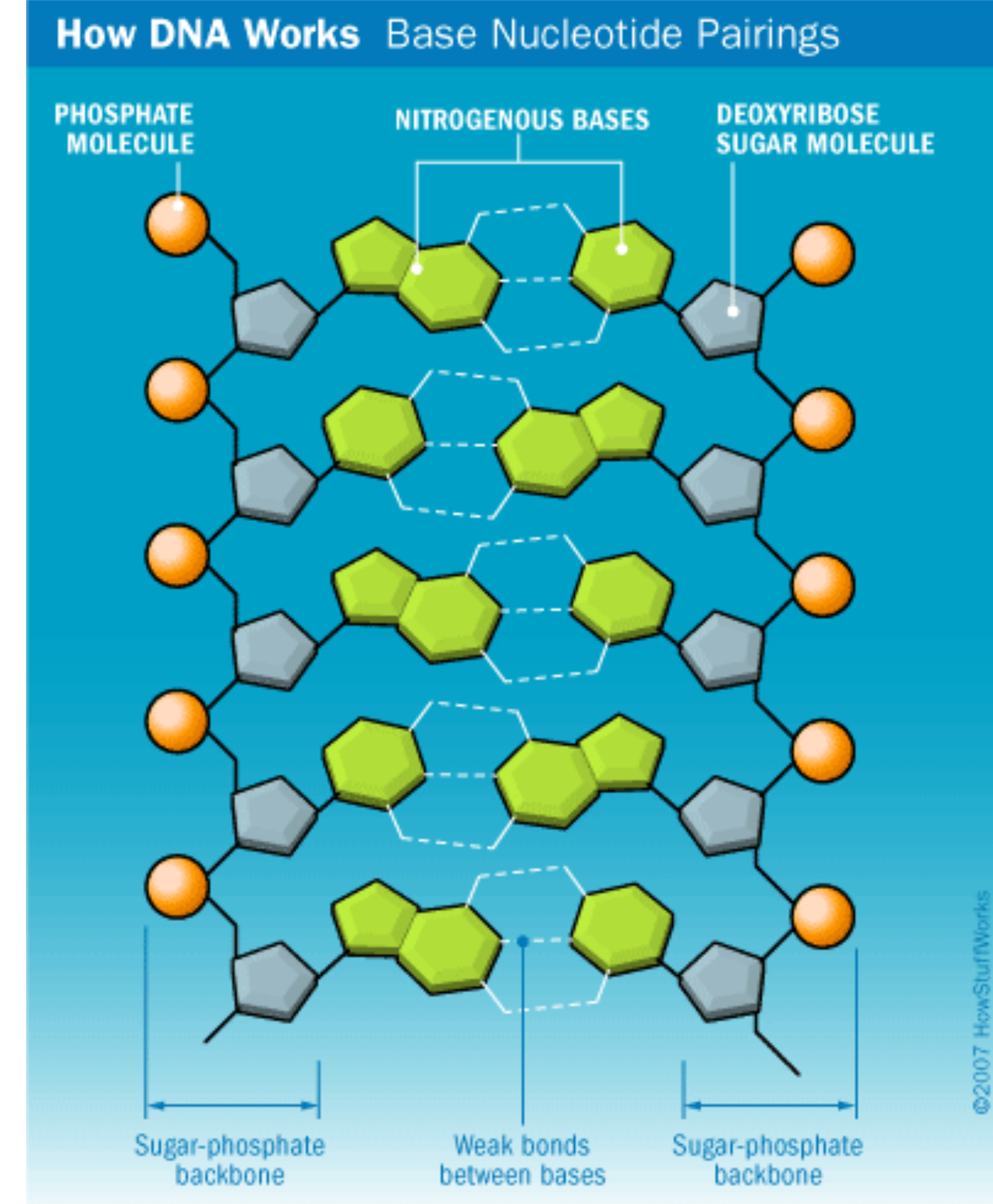


# DNA

- Cząsteczka DNA jest zbudowana z dwóch nici - podwójna helisa
- Obie nici połączone są parami nukleotydów według ścisłych reguł: A z T i C z G



U.S. National Library of Medicine



# Zasada komplementarności

---

Na podstawie sekwencji jednej nici  
można jednoznacznie odtworzyć  
sekwencję nici komplementarnej

**A zawsze z T**

**G zawsze z C**

**5' GATGTA CTGATGACATA 3'**

**3' CTACATGACTACTGTAT 5'**

**5' GATGTA CTGATGACATA 3'**

**3' CTACATGACTACTGTAT 5'**

# Istota replikacji

---

- Każda kopia matrycy staje się pełnoprawną matrycą
- Nie ma replikacji bez błędów
  - Nieskończona dokładność replikacji wymagałaby nieskończenie wiele energii
  - Systemy replikacyjne w komórkach są bardzo dokładne (częstość błędów  $\sim 10^{-8} - 10^{-9}$ )

# Replikacja

- Model semikonserwatywny:
- w każdej cząsteczce potomnej jedna nić rodzicielska i jedna nowa

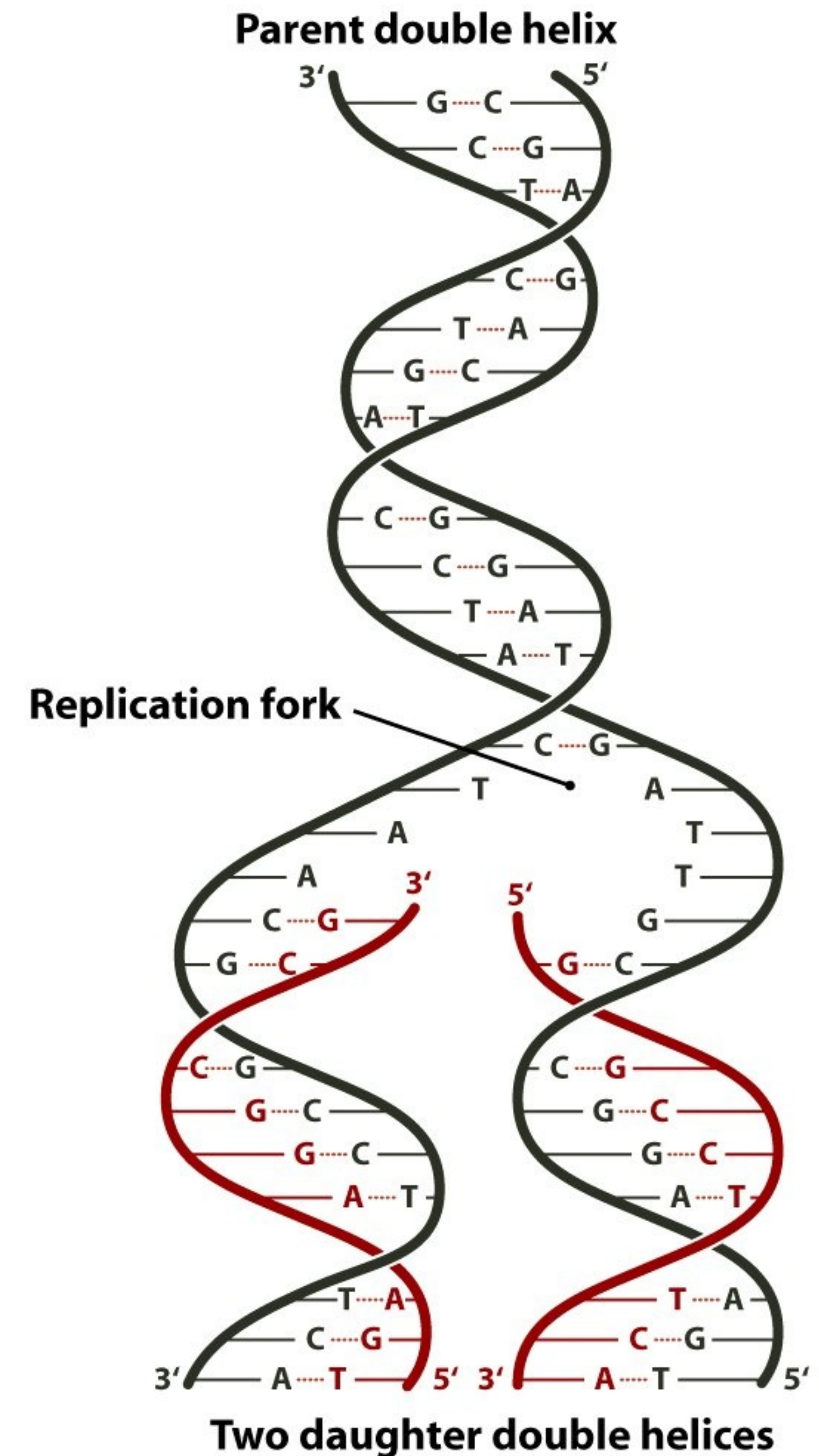
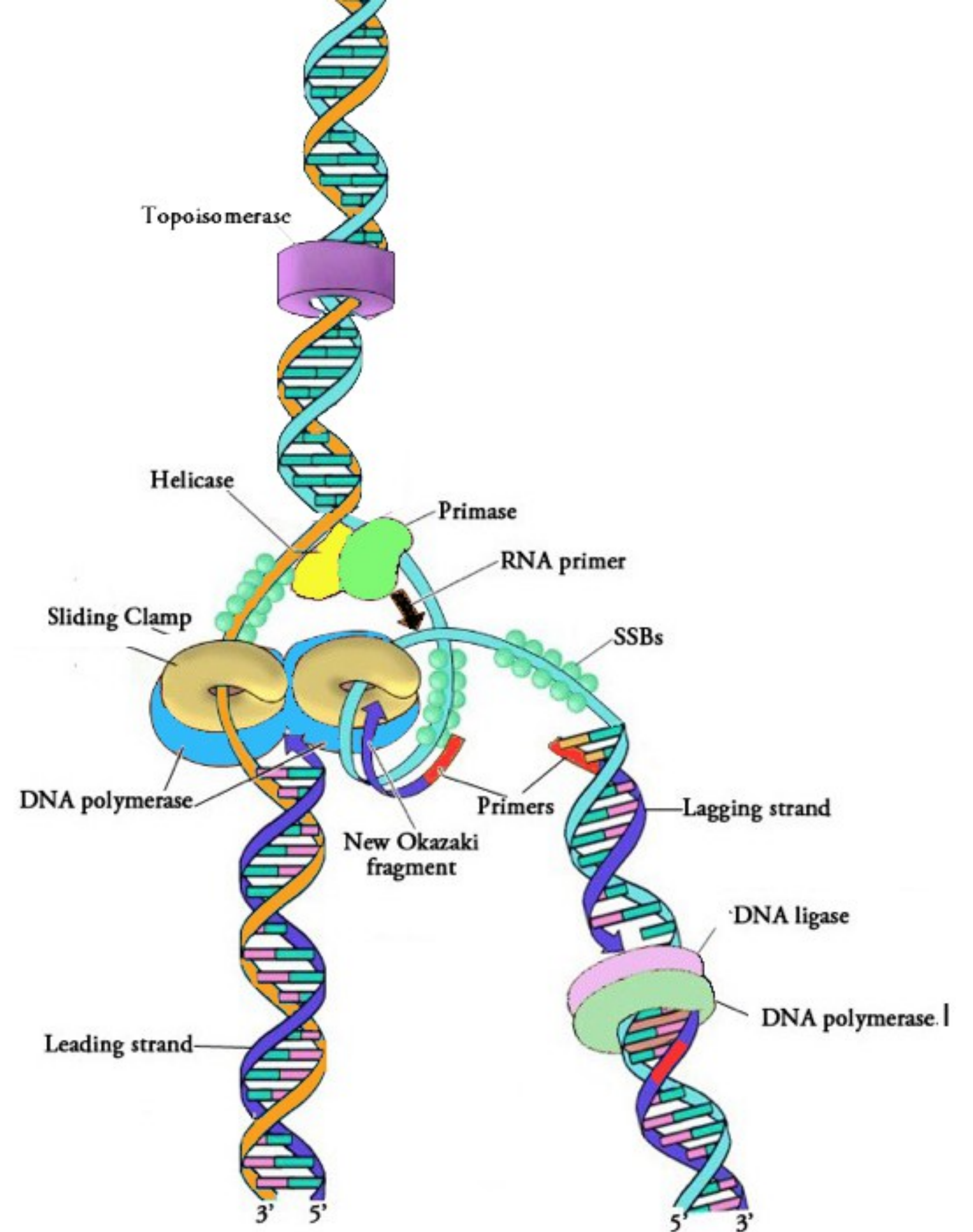


Figure 15-1 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

# Replikacja jest skomplikowana

- Zawsze tylko w jedną stronę (5' → 3')
- Dwie nici ułożone w przeciwnych kierunkach
- Na jednej z nici musi przebiegać w sposób nieciągły



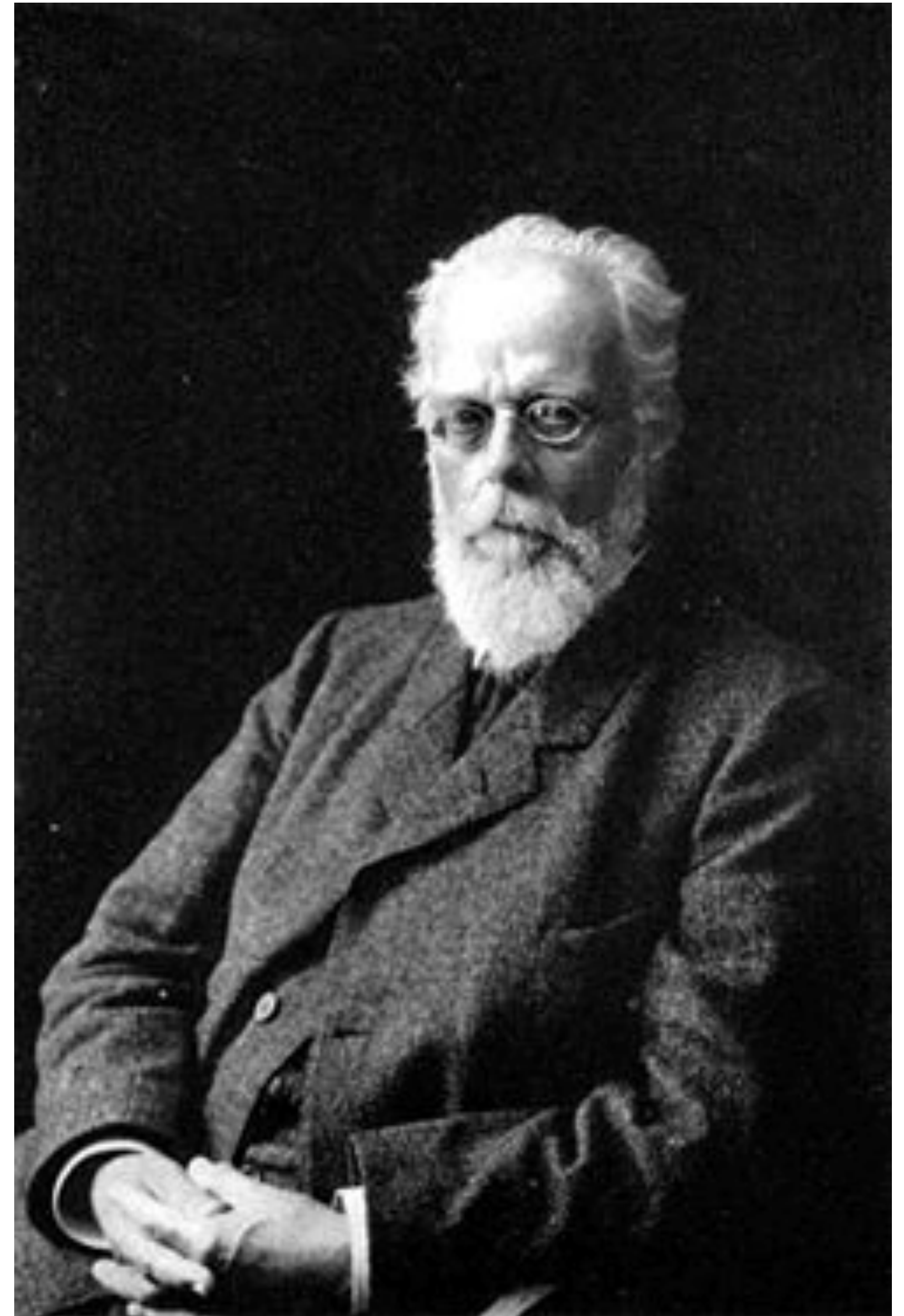


[www.dnalc.org](http://www.dnalc.org)

# Linia płciowa i soma

---

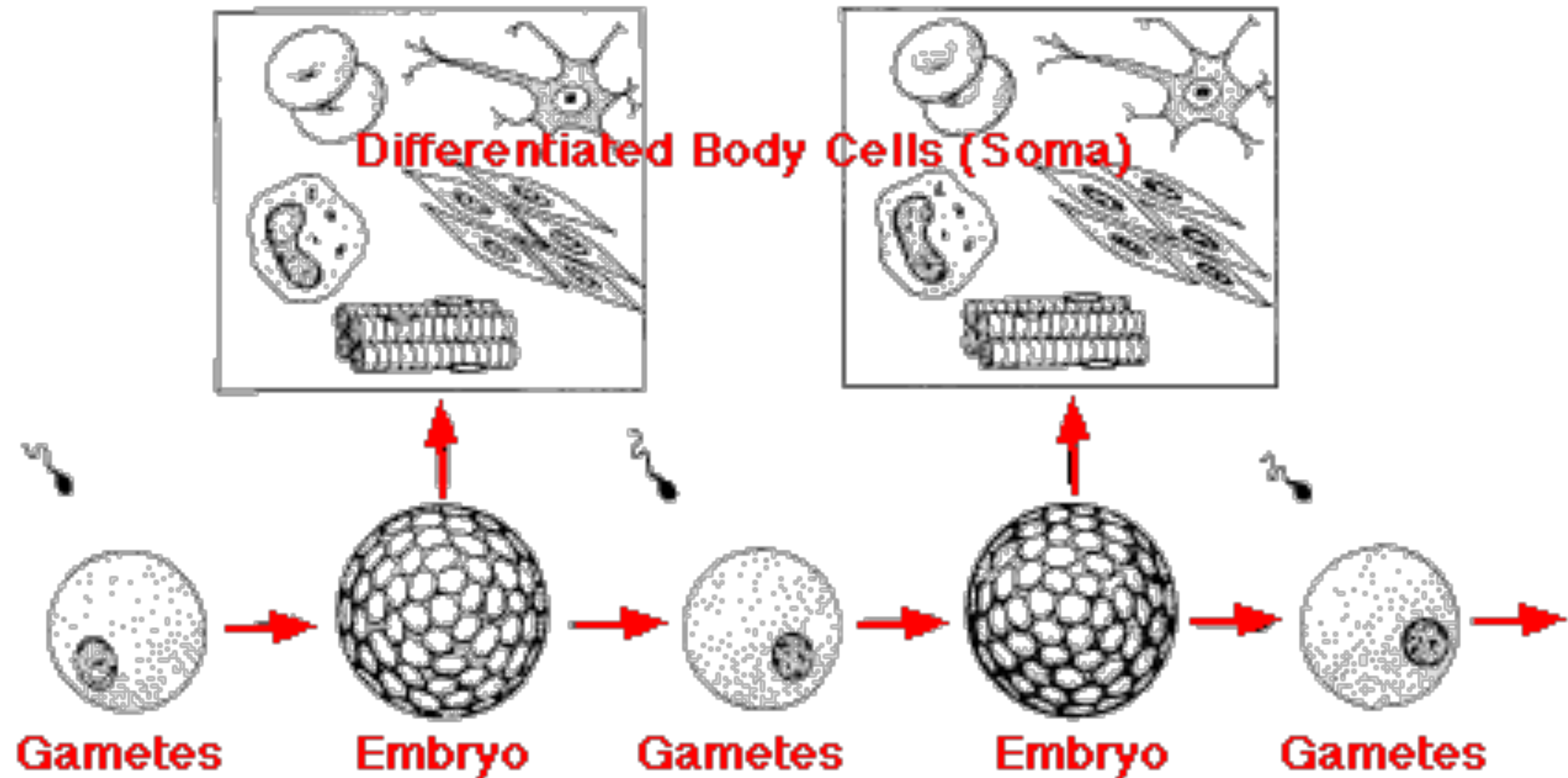
- U zwierząt są dwie grupy komórek
  - somatyczne - budują organizm, ale nie są przekazywane potomstwu
  - linii płciowej – tworzą gamety, ich genom przekazywany potomstwu
- Komórki somatyczne mają ograniczoną liczbę podziałów
  - tzw. granica Hayflicka
  - wyjątek – komórki macierzyste (granica zniesiona lub bardzo odsunięta) i komórki nowotworowe



August Weismann (1834-1914)

# Linia płciowa i soma

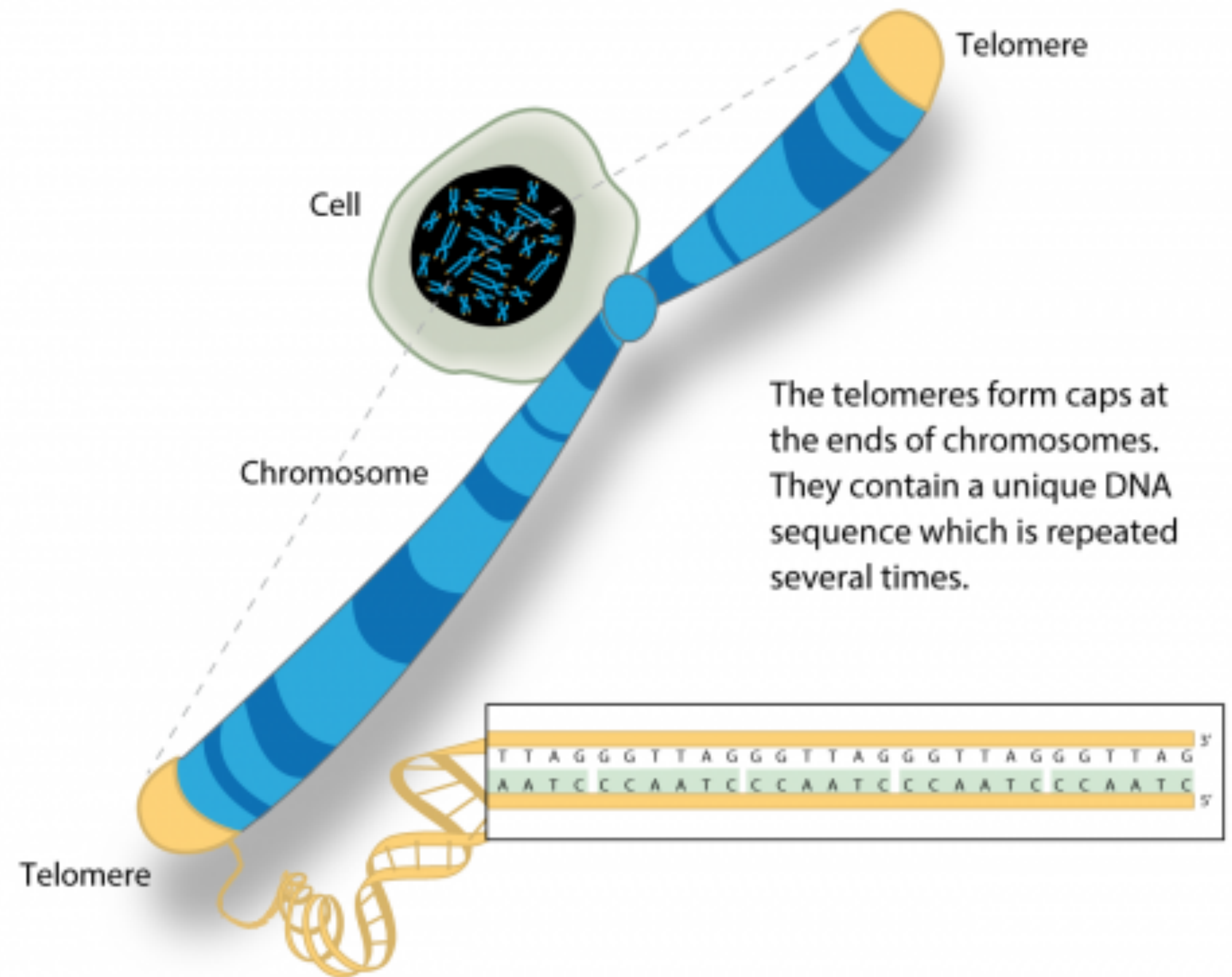
- U człowieka embrion płci żeńskiej oddziela komórki linii płciowej w 15 tygodniu od zapłodnienia (pozostają zatrzymane w profazie I)





# Telomery - molekularna podstawa granicy Hayflicka

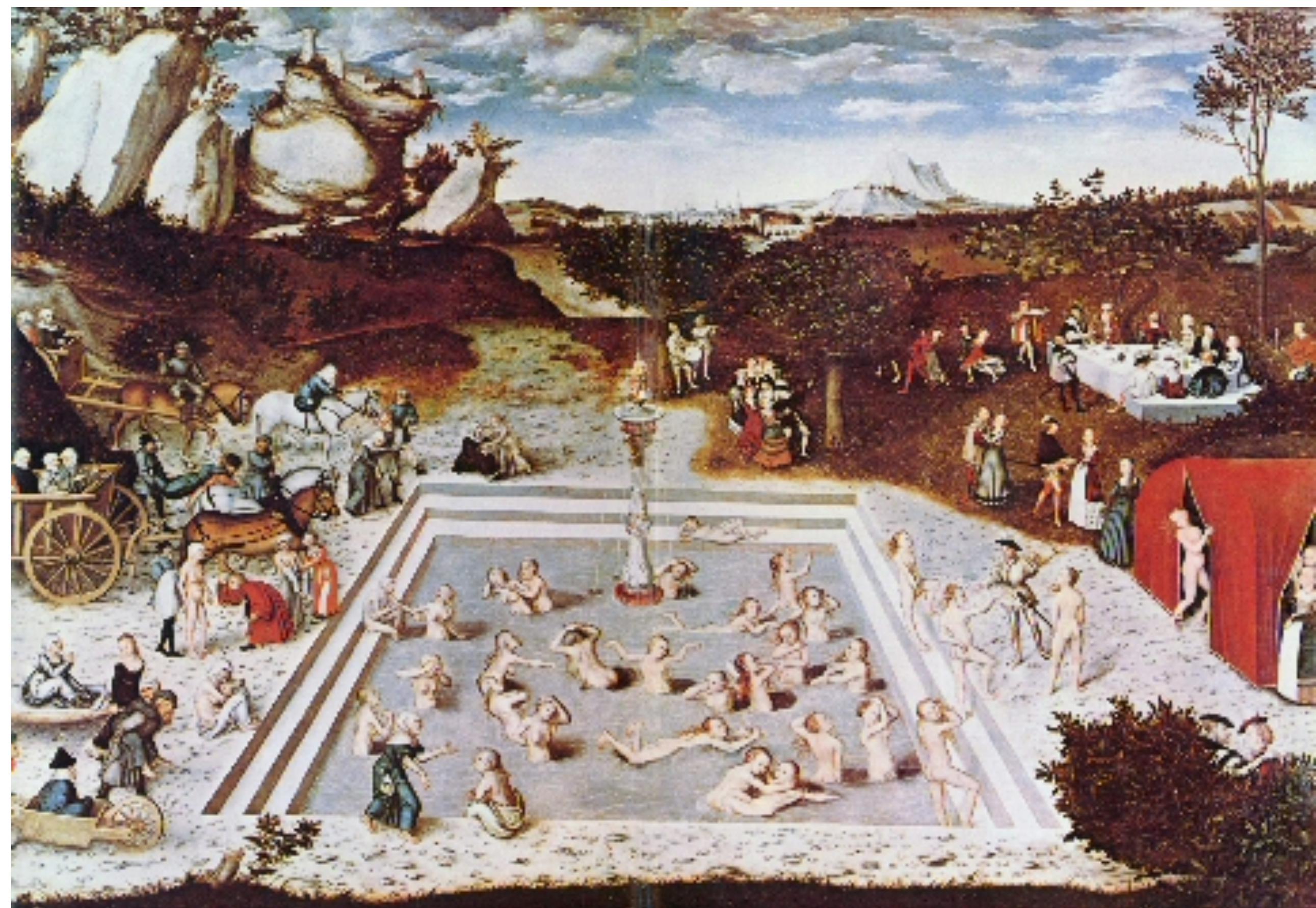
- Podczas replikacji końce chromosomów ulegają skracaniu
- Są zabezpieczone wieloma kopiami powtórzonej sekwencji TTAGGG - telomerami
- Telomery skracają się przy replikacji
  - utrata telomerów - zatrzymanie replikacji
- Mogą być odbudowywane przez telomerazę
  - ale nie w prawidłowych komórkach somatycznych
  - komórki nowotworowe dzielą się bez ograniczeń



# Wieczna młodość?

---

- Starzenie się komórek somatycznych, nie dzielących się (np. układ nerwowy) – nie zależy od telomerów
- Telomery odgrywają rolę w starzeniu się komórek macierzystych i komórek układu odpornościowego
- Skracanie telomerów jest ważnym mechanizmem przeciwnowotworowym
- Systemy podtrzymujące stabilność DNA komórek somatycznych nie są lepsze, niż jest to absolutnie niezbędne (teoria “*disposable soma*”)



# “Magiczna” telomeraza



So now you know why RENEUE™ is such a paradigm-shifting product. It delivers the exact enzymes that degrade past your 25th birthday. It's just like bringing a dying plant back to life with just some water and fertilizer. **RENEUE™ is the "water and fertilizer that your cells need to flourish."**

## "But is it easy to use?"

**Yes! RENEUE™ is available as a 30-milliliter (30cc), single-dose liquid.** This single vial of RENEUE™ represents a **"full-body cellular reset" for a full-grown adult.** RENEUE™ is taken orally every 6 months. You can drink the product right from the bottle, or mix it into your favorite beverage. **It doesn't get easier than that!**

(RENEUE™ is sold as a dietary supplement only, and is not sold to treat, prevent, diagnose, or cure any diseases or illnesses. Please consult a physician before taking this or any dietary supplement. If you are pregnant or nursing you should be aware that RENEUE™ contains grain alcohol to extend shelf life--equivalent to drinking 1 shot of 80-proof alcohol. )

JAN  
MARINI  
SKIN RESEARCH®

[Where To Buy](#) : [About Jan Marini](#) : [Skin Care Management System](#) : [Products](#) : [News](#) : [Testimonials](#) : [Contact Us](#)

**AGE INTERVENTION®**  
Regeneration Booster  
Reset Your Cells' Aging Clock!

- Overview •
- Face Cream •
- Face Serum •
- Hands •
- Eye Cream •
- Regeneration Booster •

The Science of Topical Telomerase Enzyme Therapy

A clock that regulates aging.

Your appearance follows that same genetic lifespan is determined by telomerase. Telomerase de...

RéVive.  
RESEARCH. RENEWAL. RESULTS.™

## PEAU MAGNIFIQUE

**Peau Magnifique Resets Your Skin's Aging Clock...**

Peau Magnifique. Big words for even bigger results in bio-engineered skincare. RéVive continues to push the envelope further from the scalpel to the test tube. Peau Magnifique resets your skin's "aging clock" by a minimum of five years. Telomerase converts resting adult stem cells to newly minted skin cells, i.e. recruits youth. The results are incredible and life changing.

What you will immediately notice is; Increased glow with a more robust appearance. A smoother, more even skin tone. Will reduce redness and inflammation.

Long-term you will have: Stimulated generation of new skin cells. Firmer skin with a 45% reduction in wrinkles. Increased long-term skin clarity.

**The Peau Magnifique will be presented in our limited edition luxury gift box.**

**Complimentary Revive Deluxe Travel Set with your order**

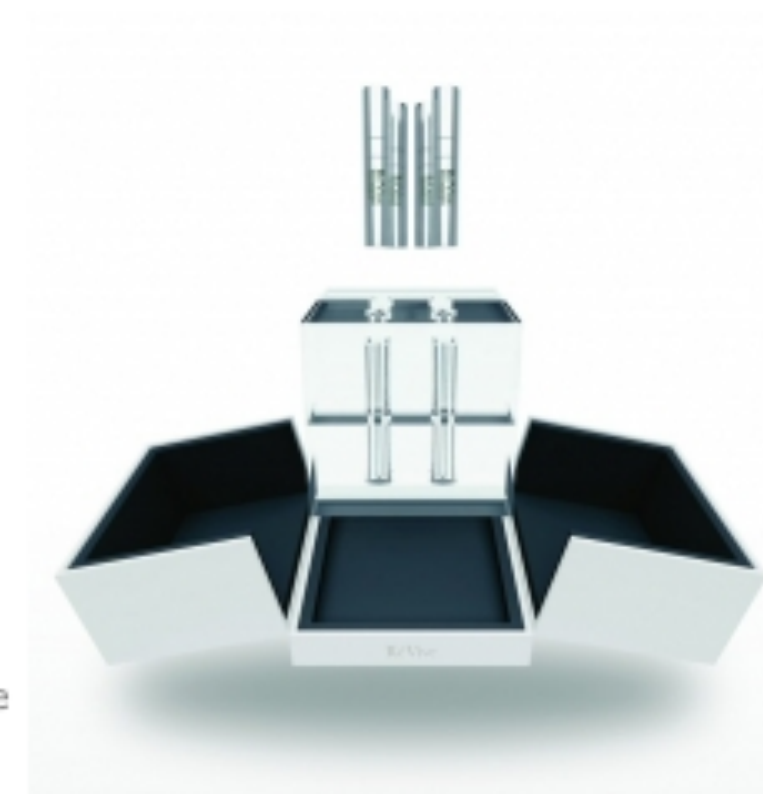
**9 Bonus Awards**

**Reference: RV-401-PM**

**£875.00**

**Exportable Info**

Select Currency:



# “Magiczna moc telomerazy” c.d.

STRONA GŁÓWNA > KOSMETYKI > PRZECIWMARSZCZKOWA KURACJA Z TELOMERAMI W TLE

## Przeciwmarszczkowa kuracja z telomerami w tle

09-03-2010



zmien rozmiar tekstu **A<sup>+</sup>** **A<sup>-</sup>**

**Dr Irena Eris wprowadza na rynek nową linię kosmetyków dla dojrzałych kobiet. Seria Telomeric wykorzystuje mechanizmy działania telomerów w procesie redukcji zmarszczek i widocznego odmładzania skóry.**

Telomery - z greckiego telos „koniec” + meros „część” - to specyficzne czapeczki znajdujące się na końcach chromosomów, które chronią DNA przed uszkodzeniami. Bez nich chromosomy ulegałyby skracaniu przy każdym kolejnym podziale komórki. Wraz z każdym podziałem telomery ulegają skróceniu - są więc swoistym zegarem molekularnym odmierzającym, ile razy komórka może się podzielić. Gdy telomery ulegają skróceniu, komórki się starzeją.

Odkrycie mechanizmu działania telomerów zostało uhonorowane Nagrodą Nobla 2009 w dziedzinie fizjologii i medycyny. Badania nad telomerami przyczyniły się do bliższego poznania mechanizmów starzenia się organizmu, nowotworzenia, niektórych chorób dziedzicznych. Teraz odkrycie to znalazło także swoje zastosowanie w kosmetyce. Aktywny składnik kosmetyków z nowej linii - Telomeric, ma utrzymywać telomery w dobrym stanie, a przez to opóźnić wejście w fazę starzenia fibroblastów.



Seria TELOMERIC polecana jest kobietom po 60 roku życia. Według producenta kosmetyki zapewnią sprężyste, wyraziste kontury twarzy oraz jednolity kolor skóry, bez bruzd, rumienia, rozszerzonych porów i przebarwień.

OPRAC.: SENIOR.PL

Zastrzeżenia odpowiedzialności



POWIADOM ZNAJOMEGO

DODAJ LINK



WERSJA DO DRUKU



KANAŁ RSS



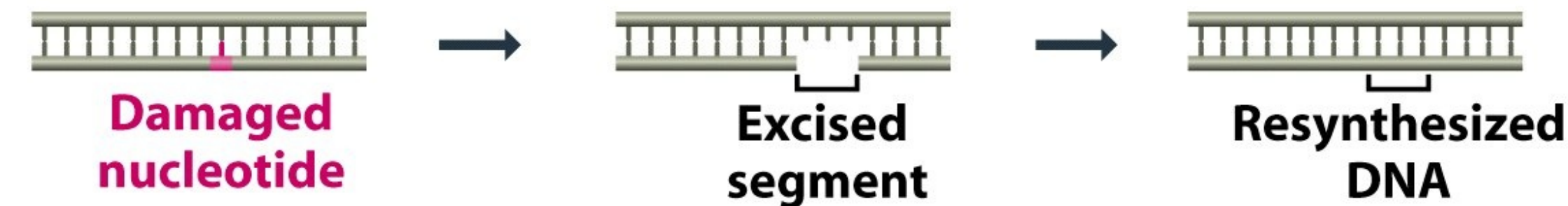
# Naprawa uszkodzeń DNA

- Uszkodzenia DNA mogą zaburzyć replikację
- W komórce istnieją systemy naprawy uszkodzeń DNA
  - bezpośrednio
  - z wycięciem i ponowną syntezą
  - rekombinacja - z wykorzystaniem drugiej kopii
- Regulacja cyklu komórkowego
  - uszkodzenia DNA hamują replikację i podziały komórki

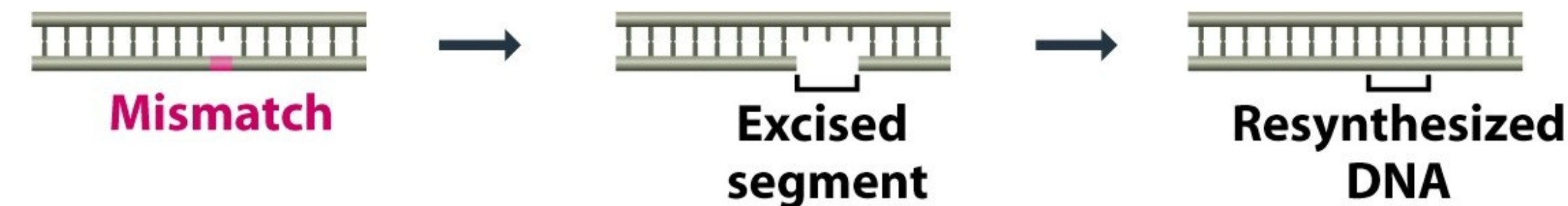
## (A) Direct repair



## (B) Excision repair



## (C) Mismatch repair



## (D) Nonhomologous end-joining



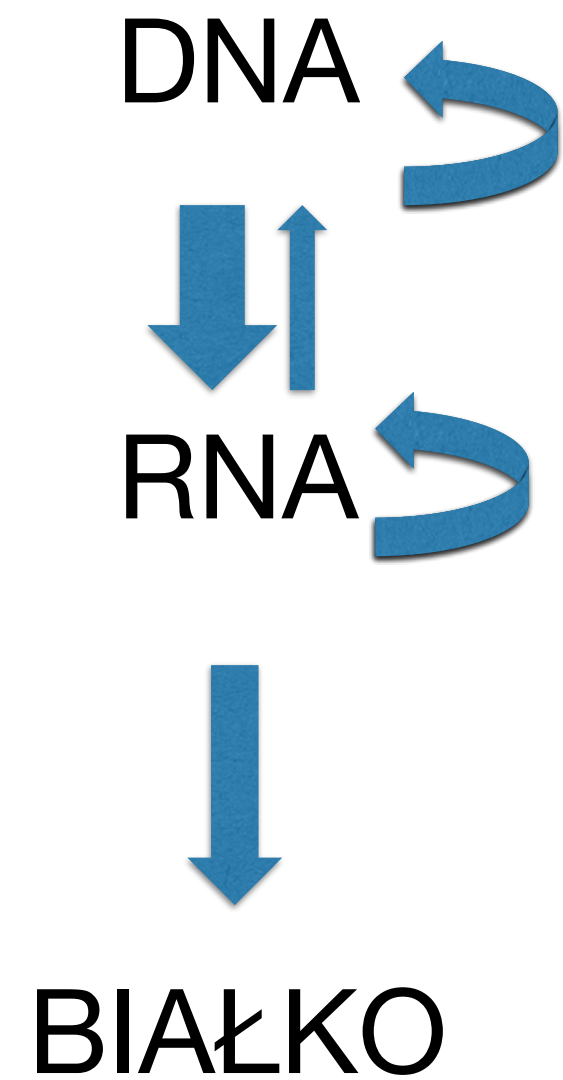
Figure 16-20 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

# Droga od DNA do białka

---

- Ekspresja genów jest najważniejszym dla funkcjonowania komórek i organizmów procesem
- Ekspresja genów eukariotycznych składa się z wielu złożonych etapów, z których każdy może podlegać regulacji

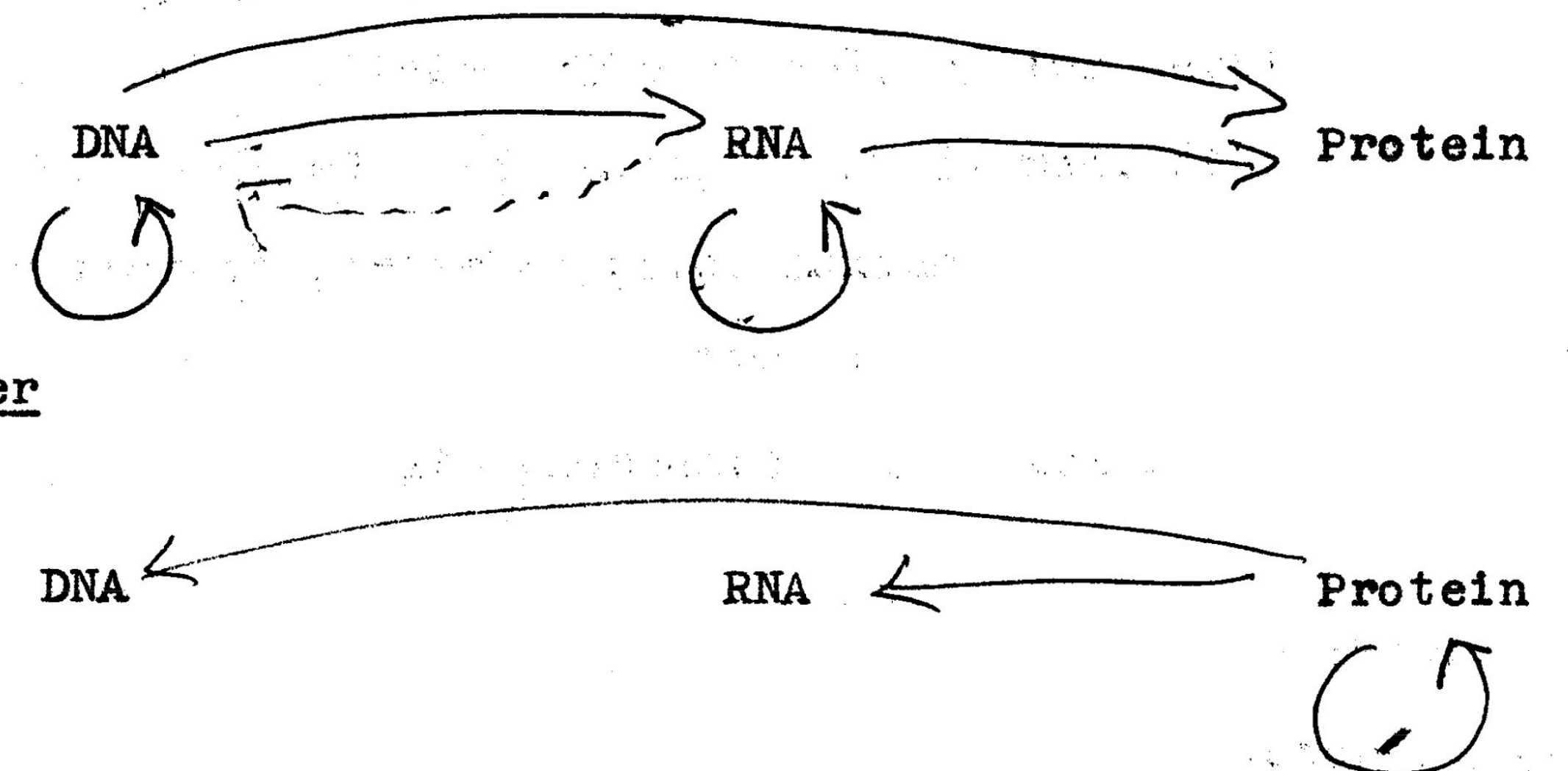
# Ekspresja - centralna hipoteza ("dogmat")



## Ideas on Protein Synthesis (Oct. 1956)

The Doctrine of the Triad.

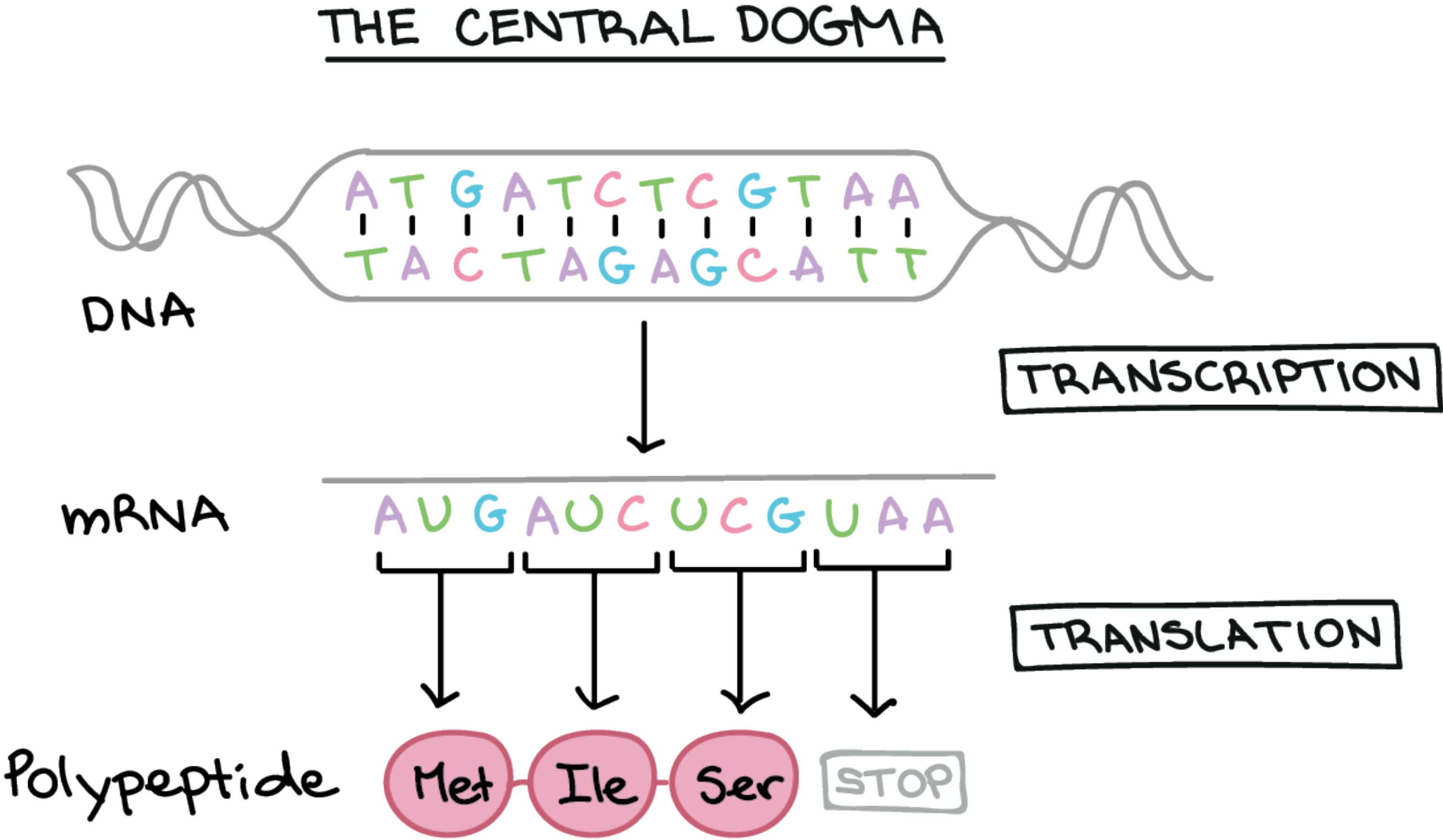
The Central Dogma: "Once information has got into a protein it can't get out again". Information here means the sequence of the amino acid residues, or other sequences related to it. That is, we may be able to have



Francis Crick, 1956

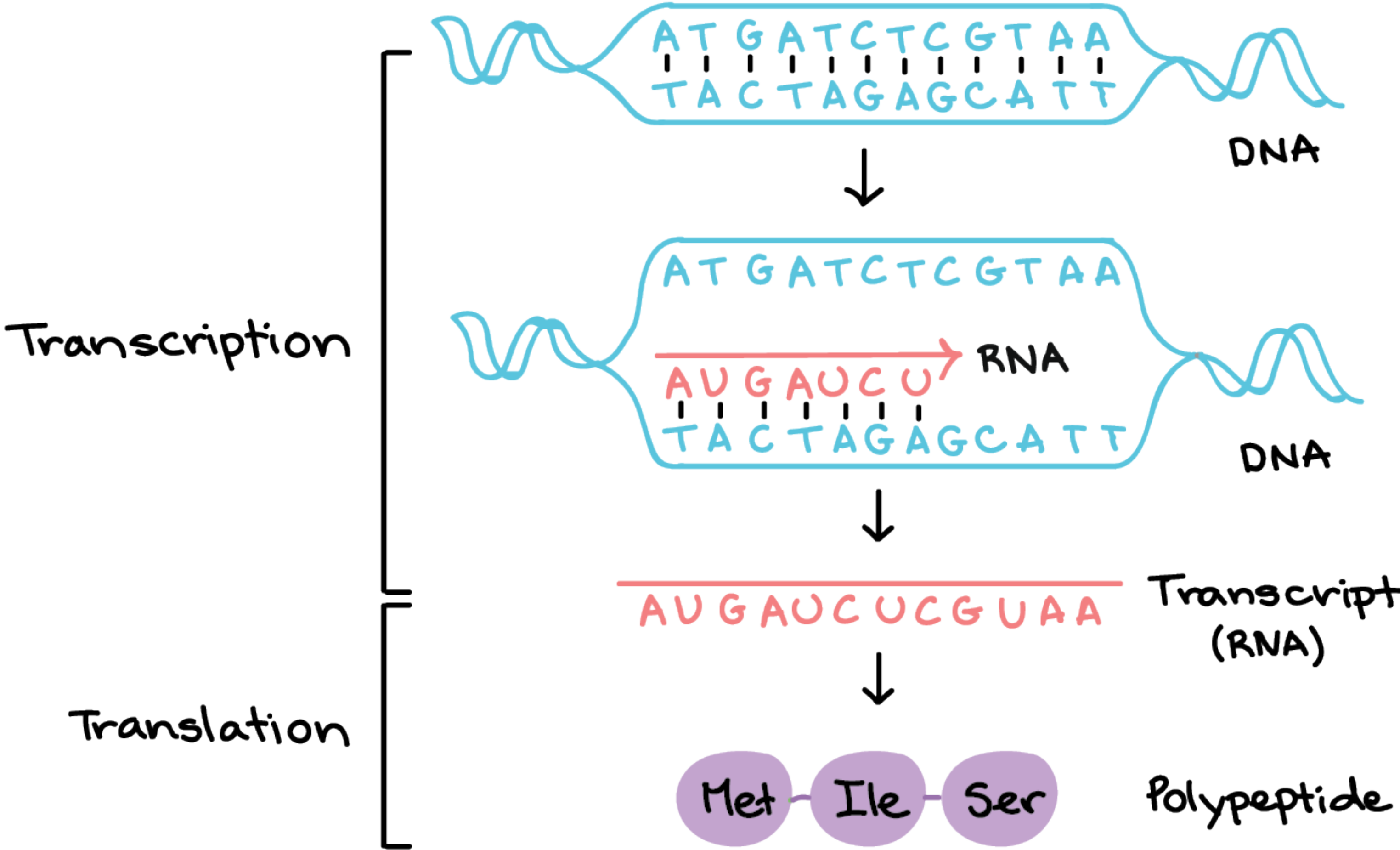
where the arrows show the transfer of information.

# Transkrypcja i translacja





# Transkrypcja



# RNA a DNA

- Bardzo podobne cząsteczki
- Podobna zasada funkcjonowania (komplementarne pary zasad)
- Różnice
  - RNA jest przeważnie jednoniciowy
  - cukrem jest ryboza, a nie deoksyryboza
  - zamiast tyminy (T) jest uracyl (U)
- RNA może zwiąć się w bardzo różnorodne struktury przestrzenne
  - Pełni wiele różnych funkcji w komórce

## DNA vs. RNA

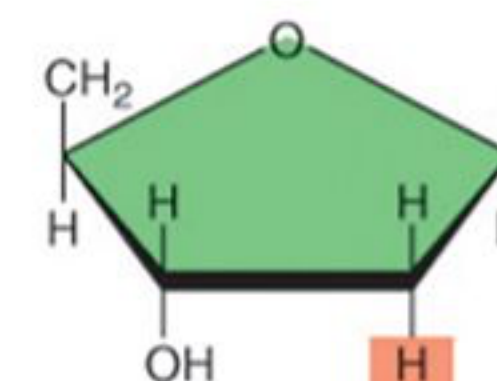


Double-stranded

b.

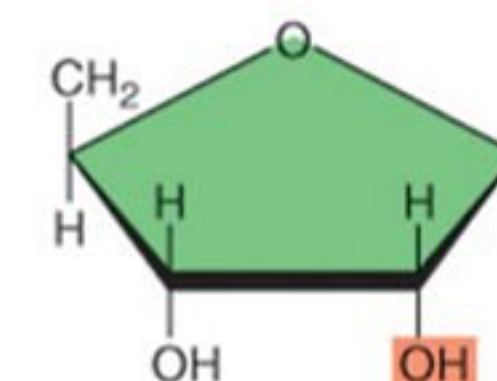


Generally single-stranded



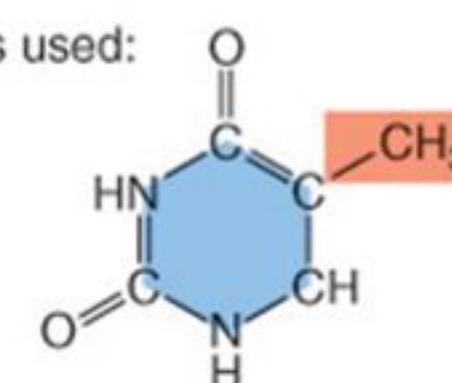
Deoxyribose as the sugar

c.



Ribose as the sugar

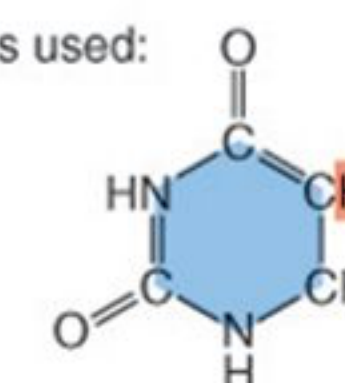
Bases used:



Thymine (T)  
Cytosine (C)  
Adenine (A)  
Guanine (G)

d.

Bases used:

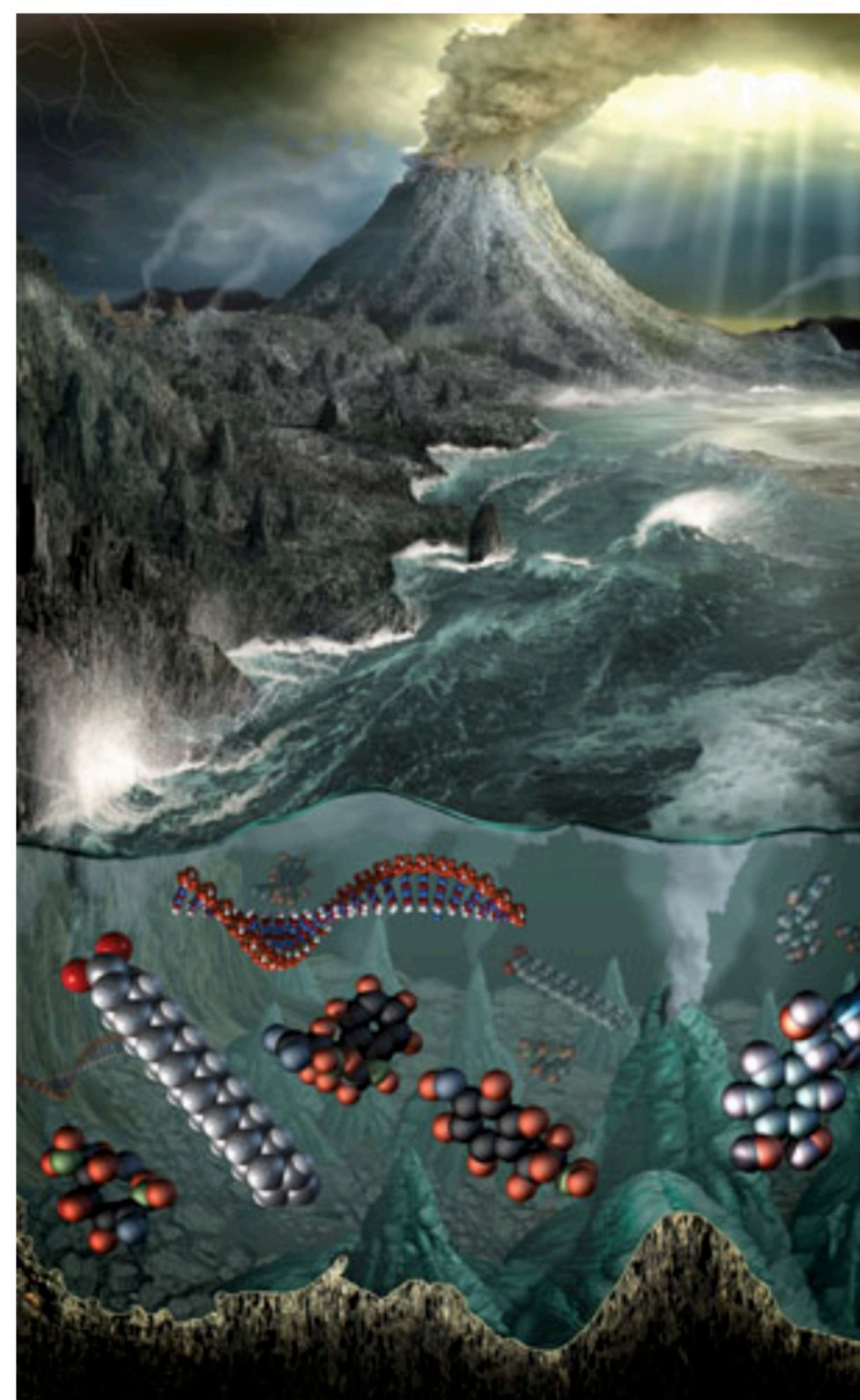


Uracil (U)  
Cytosine (C)  
Adenine (A)  
Guanine (G)

# Świat RNA

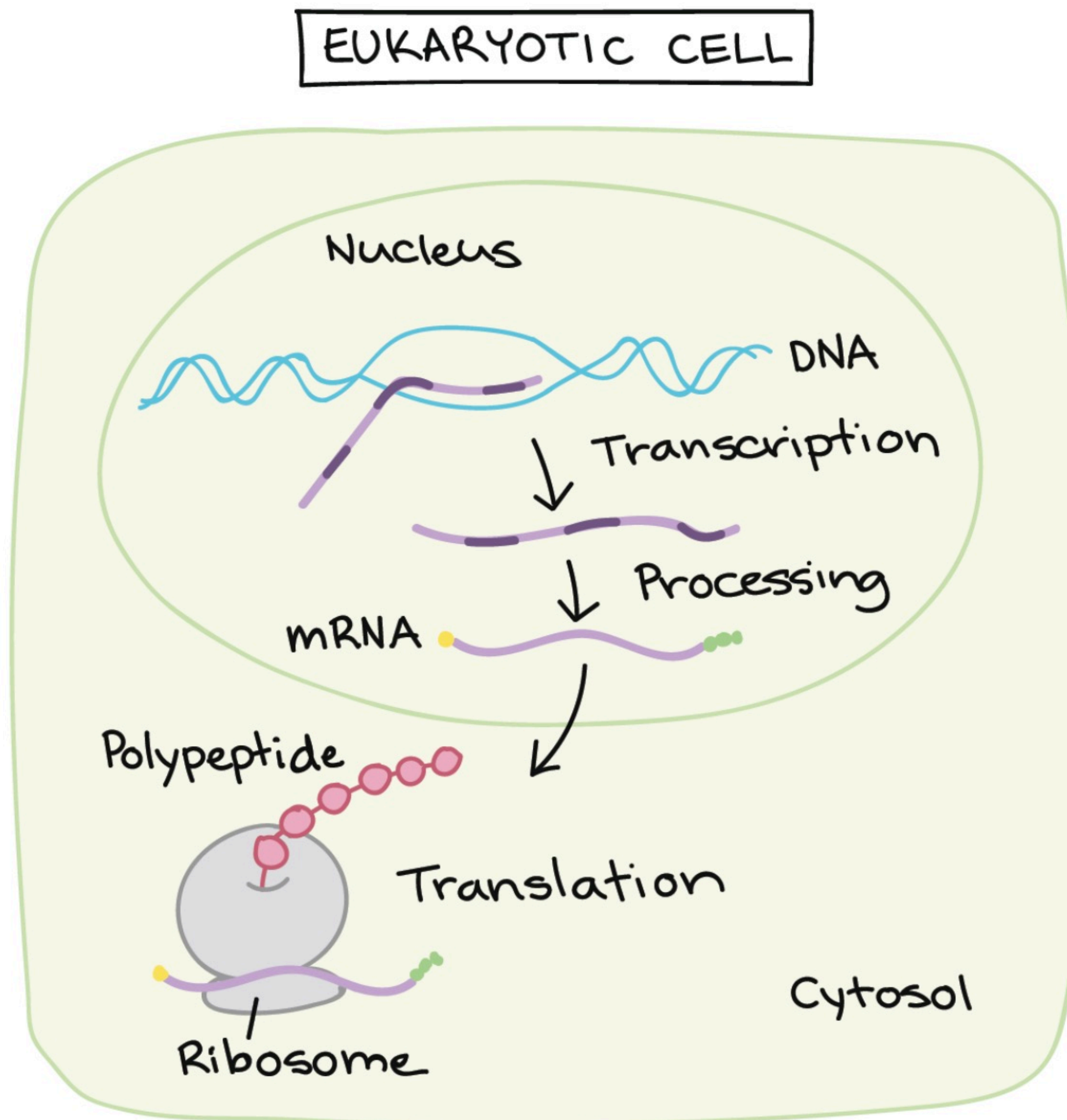
---

- RNA może tworzyć bardzo różnorodne struktury
- Jest aktywniejszy chemicznie od DNA
- Może mieć właściwości enzymu - rybozymy
- Ale może też być replikowany i nieść informację
- **Hipoteza świata RNA** - życie powstało na bazie RNA, który zarówno przechowywał informację, jak i ją realizował
- białka i DNA wyewoluowały później

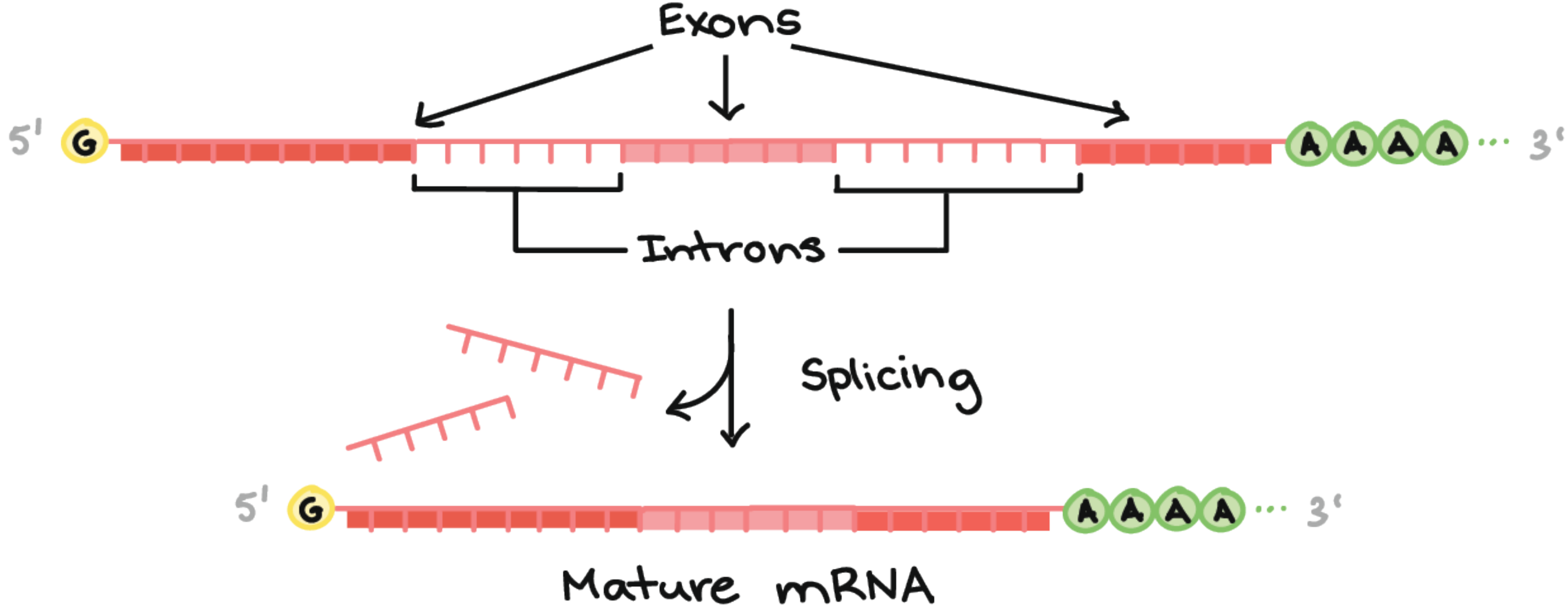


# Złożone losy RNA

- U eukariontów mRNA służący do syntezy białka nie jest prostą kopią sekwencji DNA
- Po drodze zachodzi wiele procesów **obróbki RNA**
- Najbardziej podstawowym jest składanie (*splicing*)
- pewne fragmenty (**introny**) są wycinane, a pozostałe (**eksony**) łączone

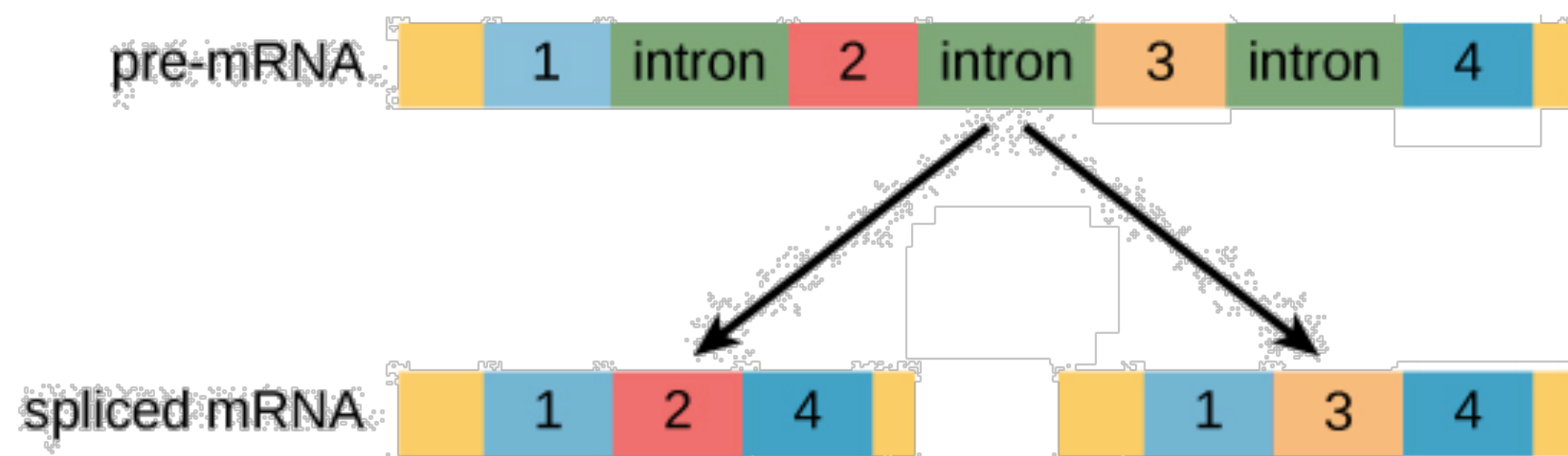


# Składanie zachodzi w jądrze podczas transkrypcji

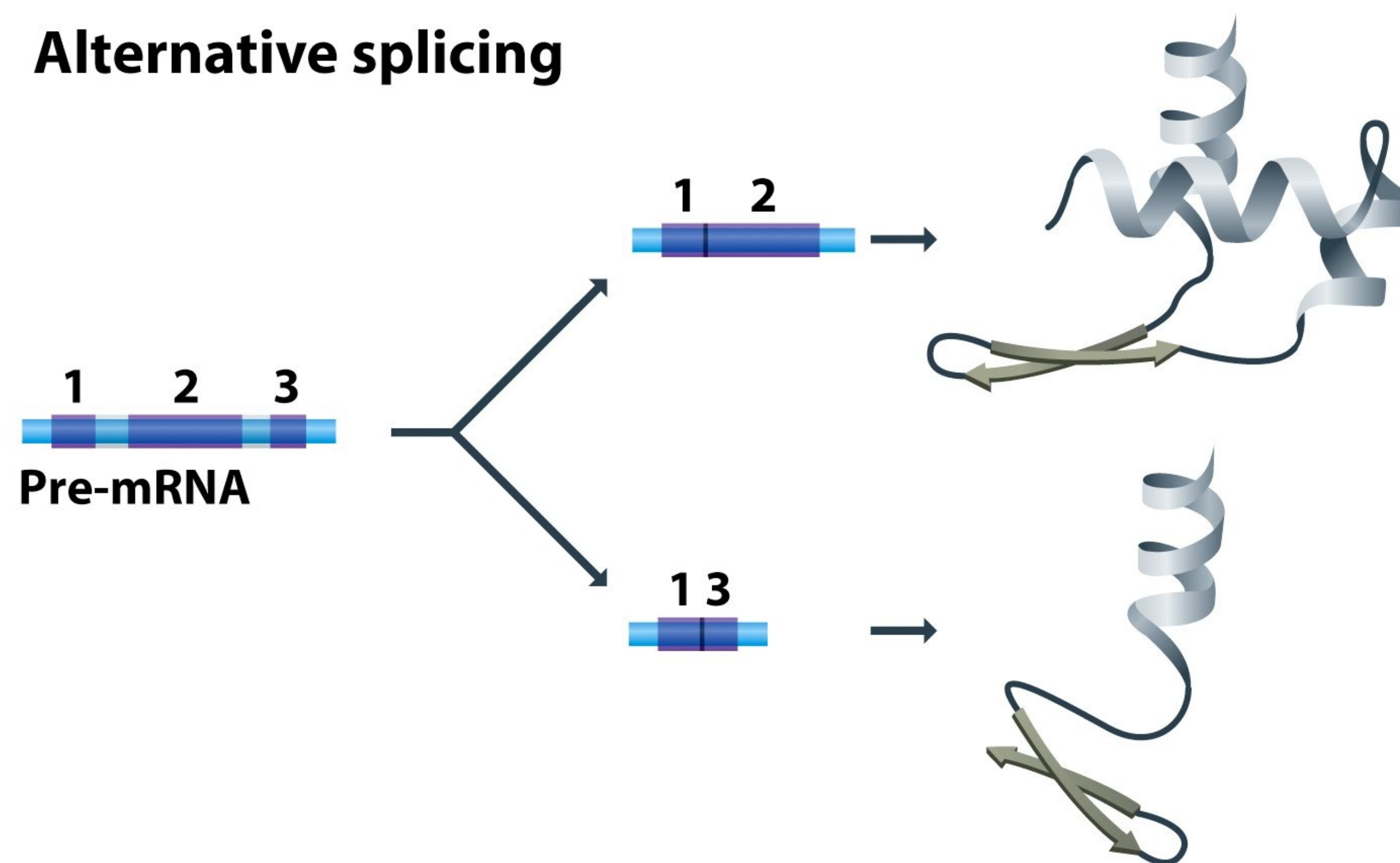


# Alternatywne składanie

- Ten sam transkrypt może być składany na różne sposoby
- Z jednego odcinka DNA (genu) może powstać wiele różnych białek
- Większość genów zwierząt i roślin podlega alternatywnemu składaniu
- Dlatego powstaje więcej różnych białek, niż jest genów



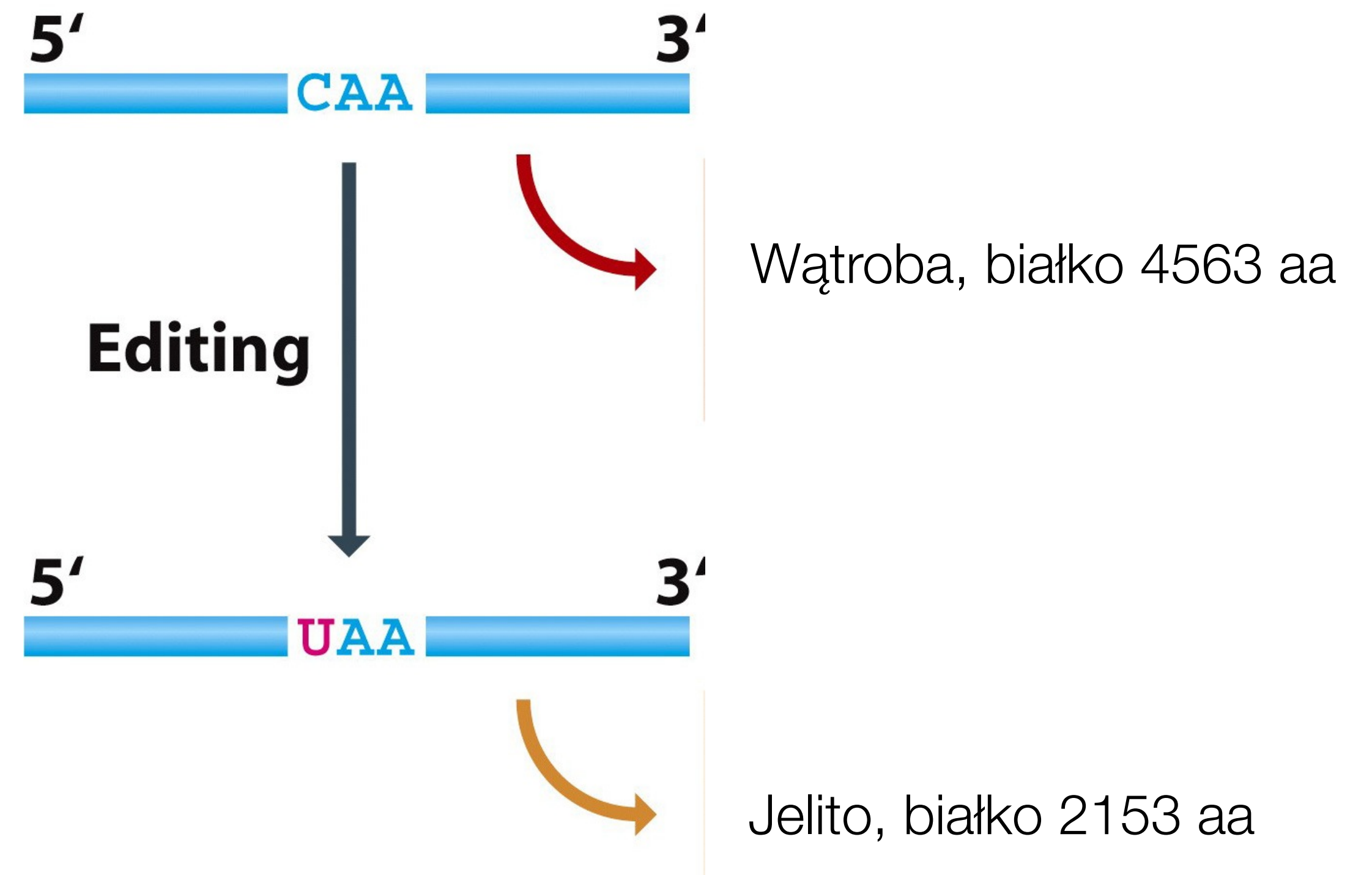
## Alternative splicing



# Redagowanie (editing)

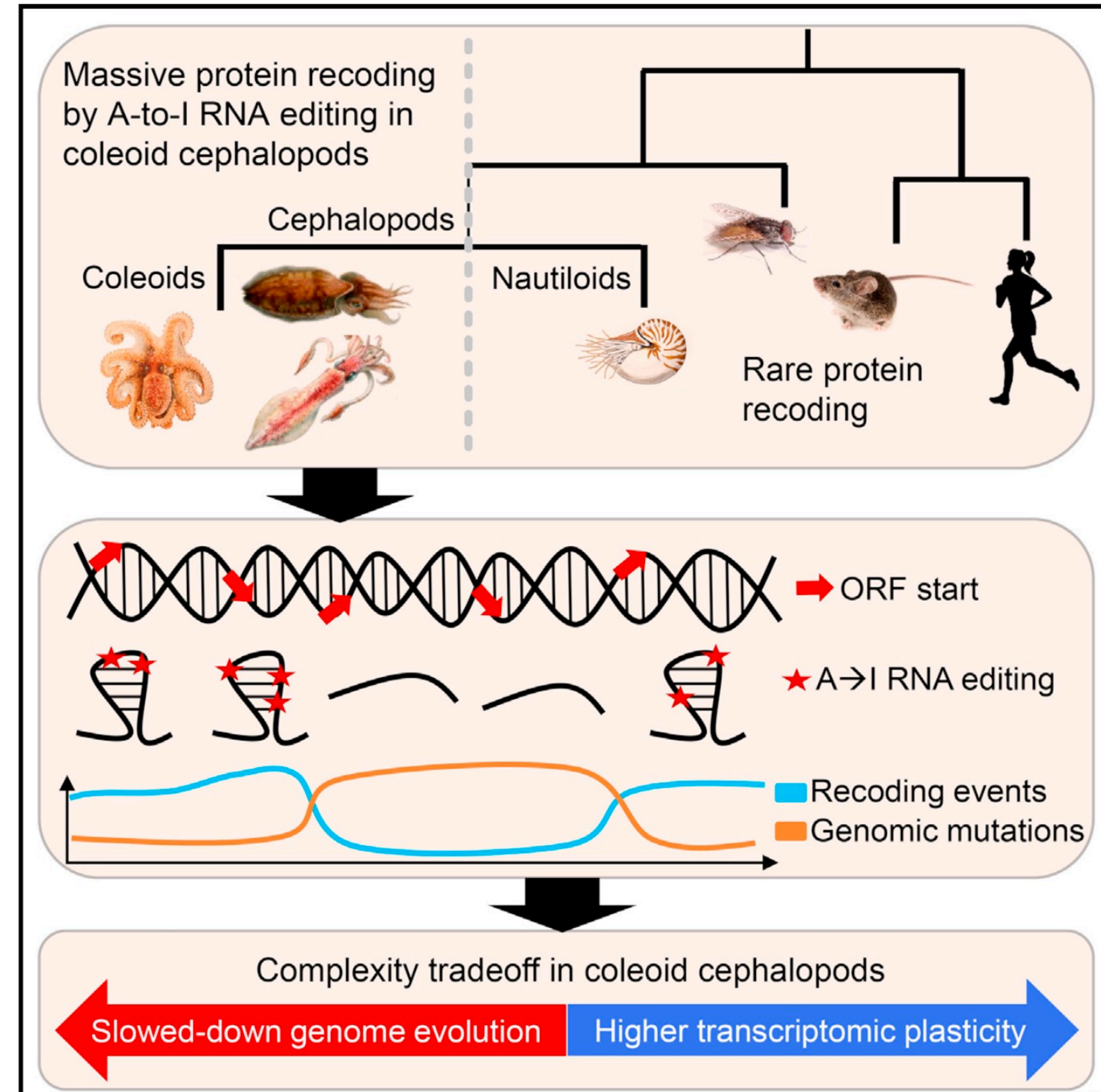
---

- Zmiana konkretnego nukleotydu w RNA po transkrypcji
- Częste w organellach roślin i niższych eukariontów
- Np. apolipoproteina B człowieka



# Redagowanie transkryptów u głowonogów

- U głowonogów (ośmiornice) bardzo częste redagowanie
- u człowieka ~3% mRNA
- u głowonogów ~100 000 miejsc, z czego ~10% zmienia sekwencję białka
- Zwiększenie różnorodności w ewolucji
- Kosztem wolniejszej ewolucji całego genomu



## Trade-off between Transcriptome Plasticity and Genome Evolution in Cephalopods

Liscovitch-Brauer et al., 2017, Cell 169, 191–202

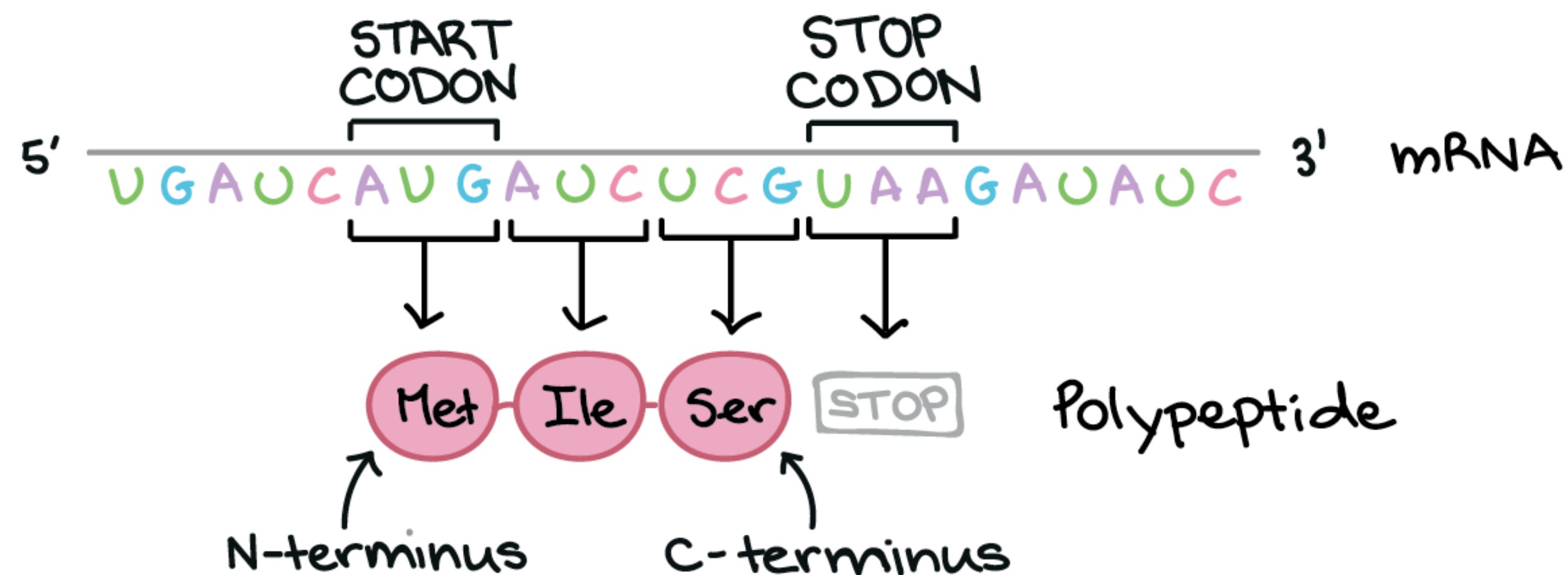
April 6, 2017 © 2017 Elsevier Inc.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.03.025>



# Translacja

- Trójki nukleotydów w mRNA - **kodony** - kodują aminokwasy
- $4^3 = 64$  możliwe kodony, aminokwasów jest 20
- 3 kodony STOP
- 61 kodonów: 20 aminokwasów - kilka kodonów może kodować ten sam aminokwas
- Ale **zawsze dany jeden kodon koduje ten sam aminokwas**



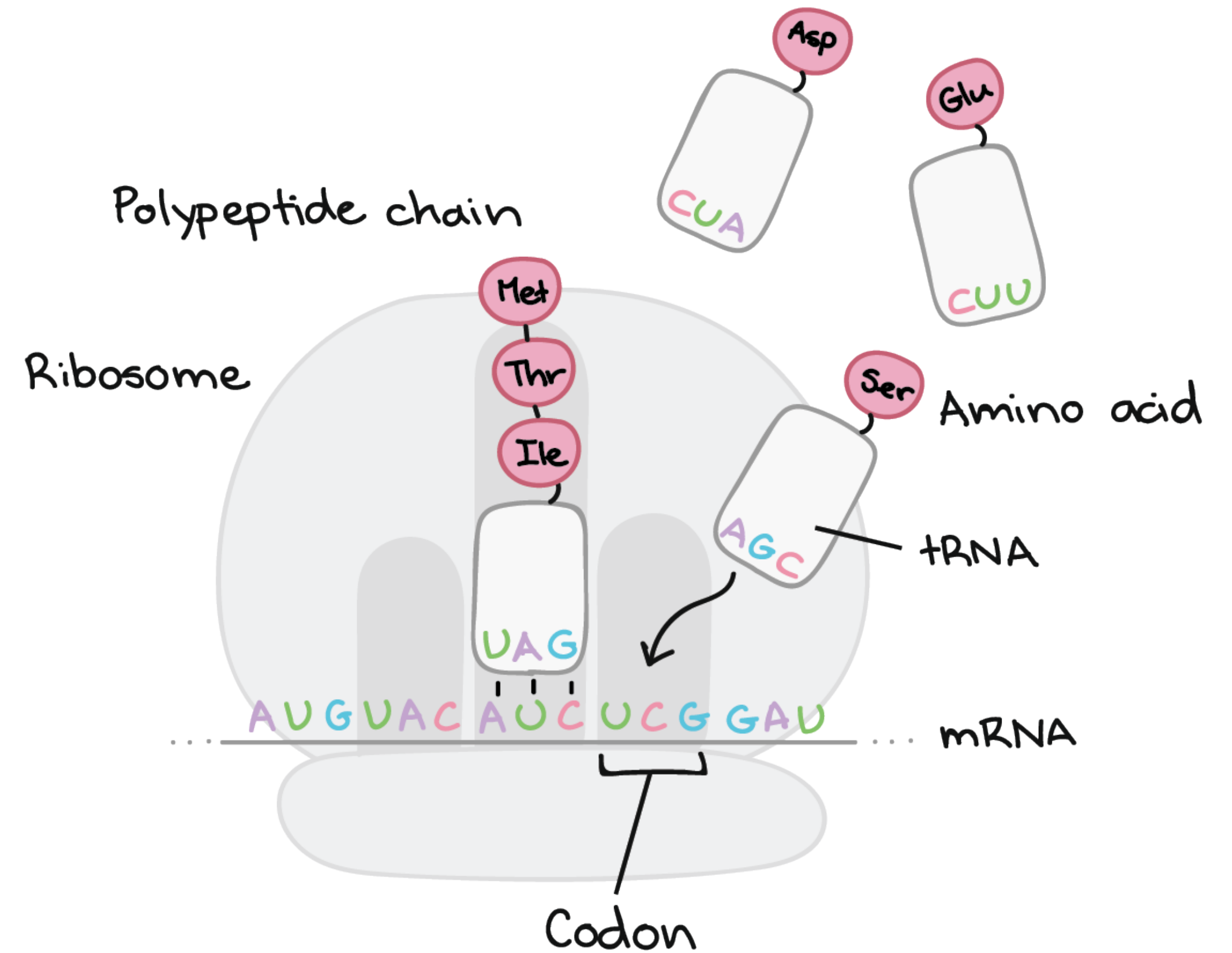
# Kod genetyczny

- Uniwersalny - taki sam u wszystkich znanych organizmów
- nieliczne wyjątki dotyczące pojedynczych kodonów
- Wniosek: istniał w obecnej postaci u ostatniego wspólnego przodka żyjących obecnie organizmów (ok. 3,6 mld lat temu)

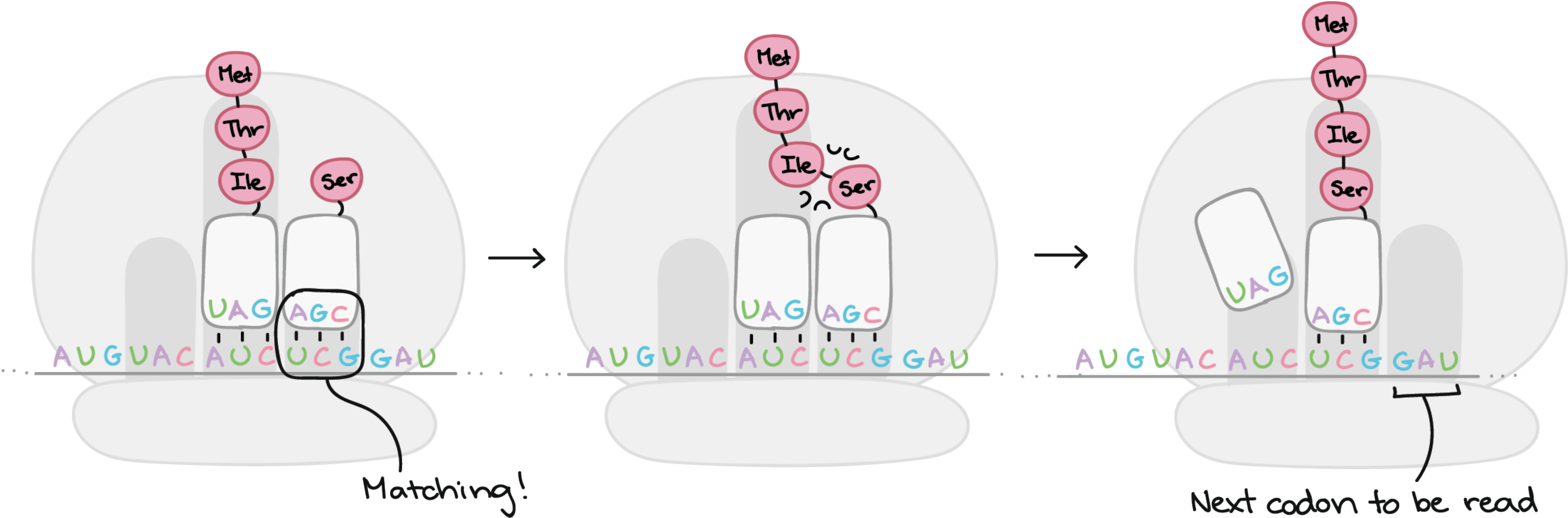
		Second letter				
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } <b>UAA Stop</b> <b>UAG Stop</b>	UGU } Cys UGC } <b>UGA Stop</b> UGG Trp	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile AUA } <b>AUG Met</b>	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

# Translacja

- Translacja zachodzi w rybosomach
- kompleks kilkudziesięciu białek i RNA (rRNA)
- tRNA przenoszą aminokwasy, rozpoznają odpowiednie kodony na zasadzie komplementarności



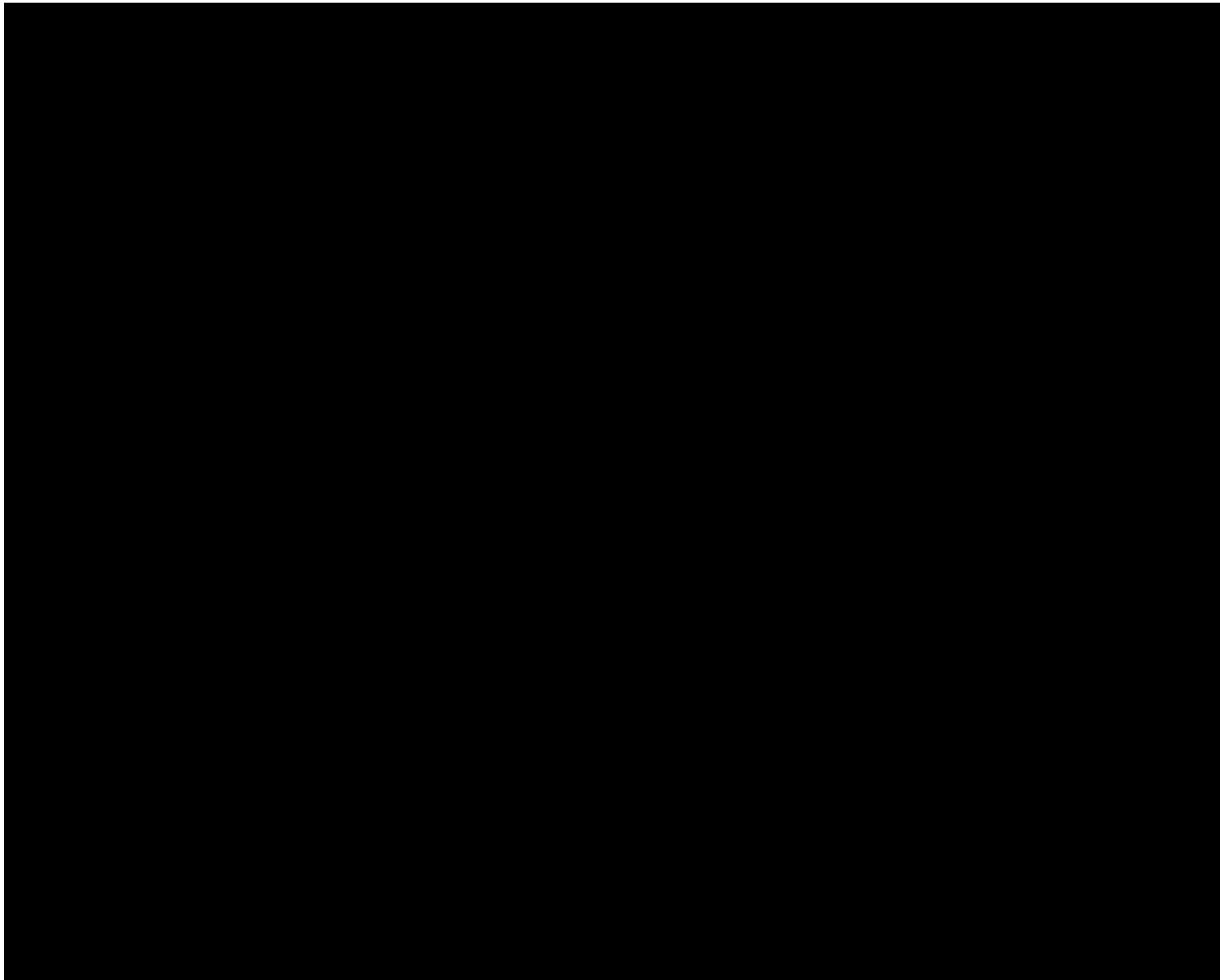
# Translacja



tRNA binds to exposed codon.

New amino acid attaches to polypeptide chain.

Ribosome shifts one codon over on the mRNA.

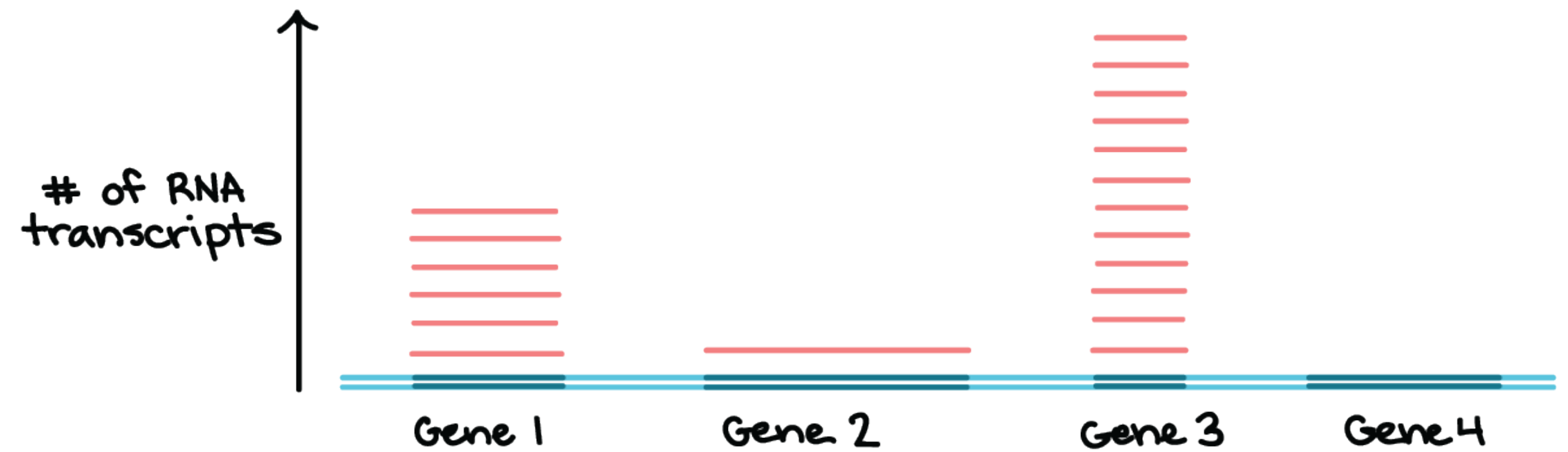


[http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/ribo/homepage/mov\\_and\\_overview.html](http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/ribo/homepage/mov_and_overview.html)

# Regulacja działania genów

---

- Każdy gen ulega ekspresji na innym poziomie
- Komórki z tym samym DNA mogą wyrażać różne geny na różnym poziomie - podstawa procesów regulacyjnych



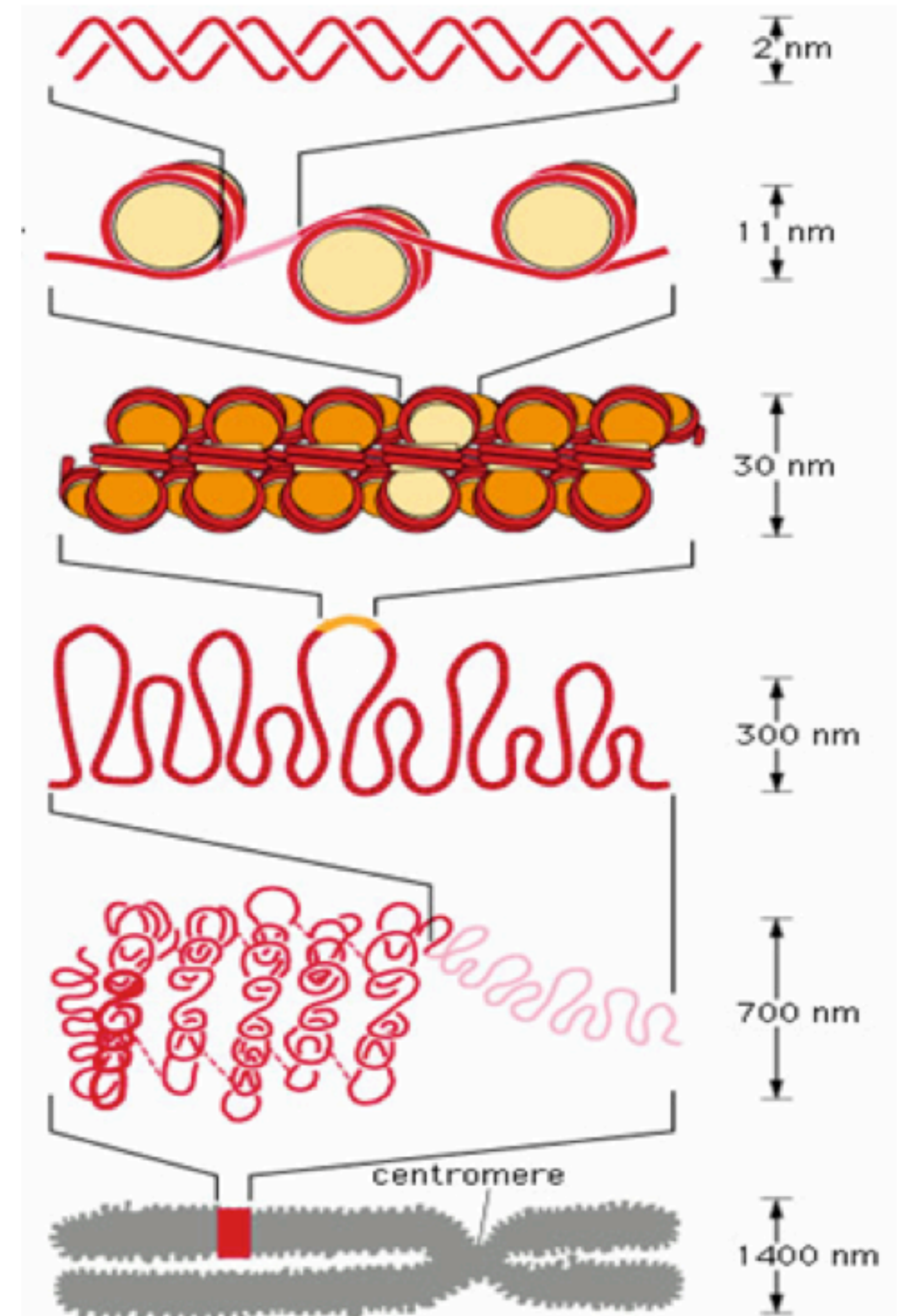
# Regulacja ekspresji genów zachodzi na wielu etapach

---

- Struktura chromatyny
- Transkrypcja
- Obróbka i stabilność RNA
- Translacja
- Modyfikacje i degradacja białek

# Chromatyna

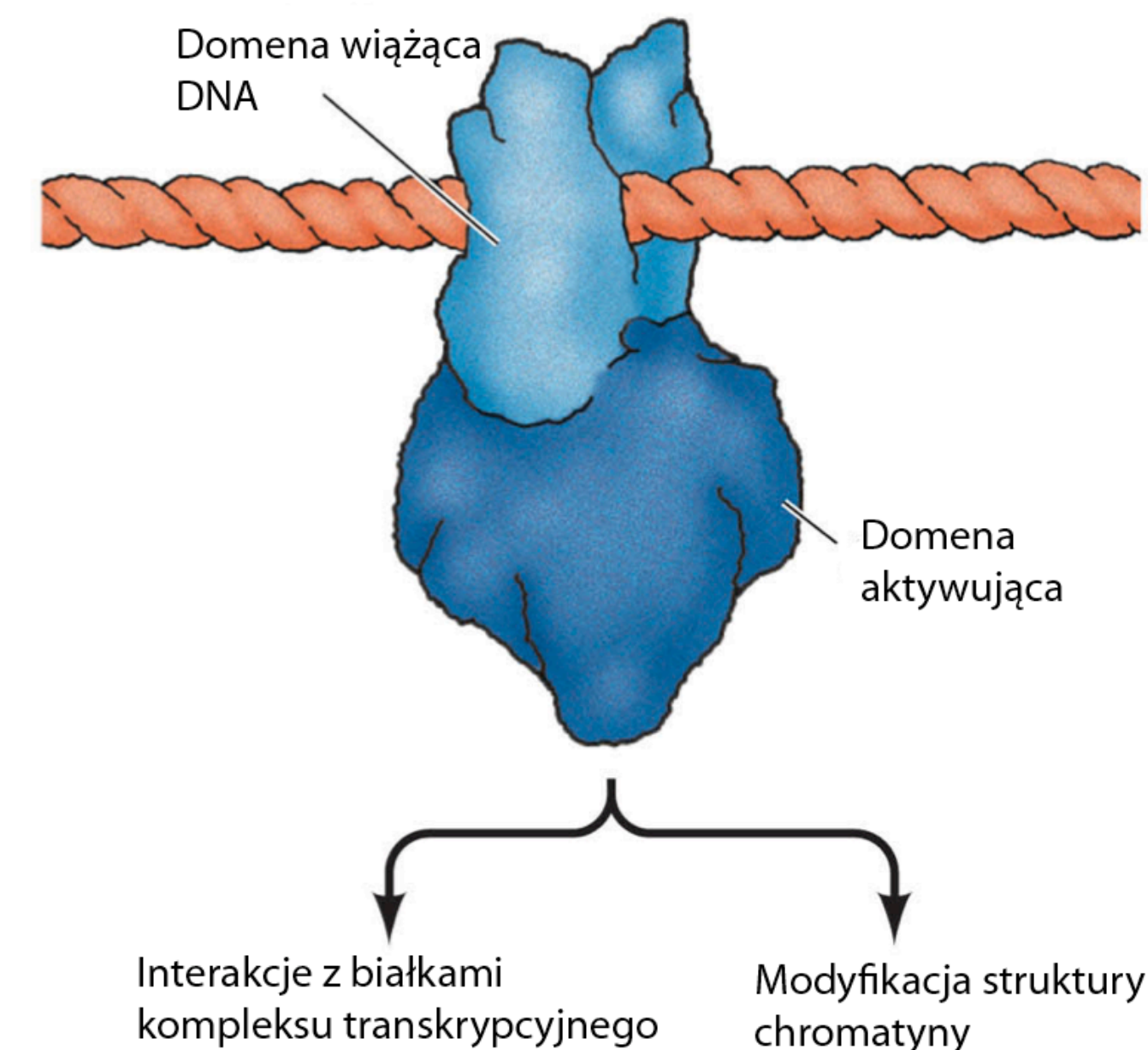
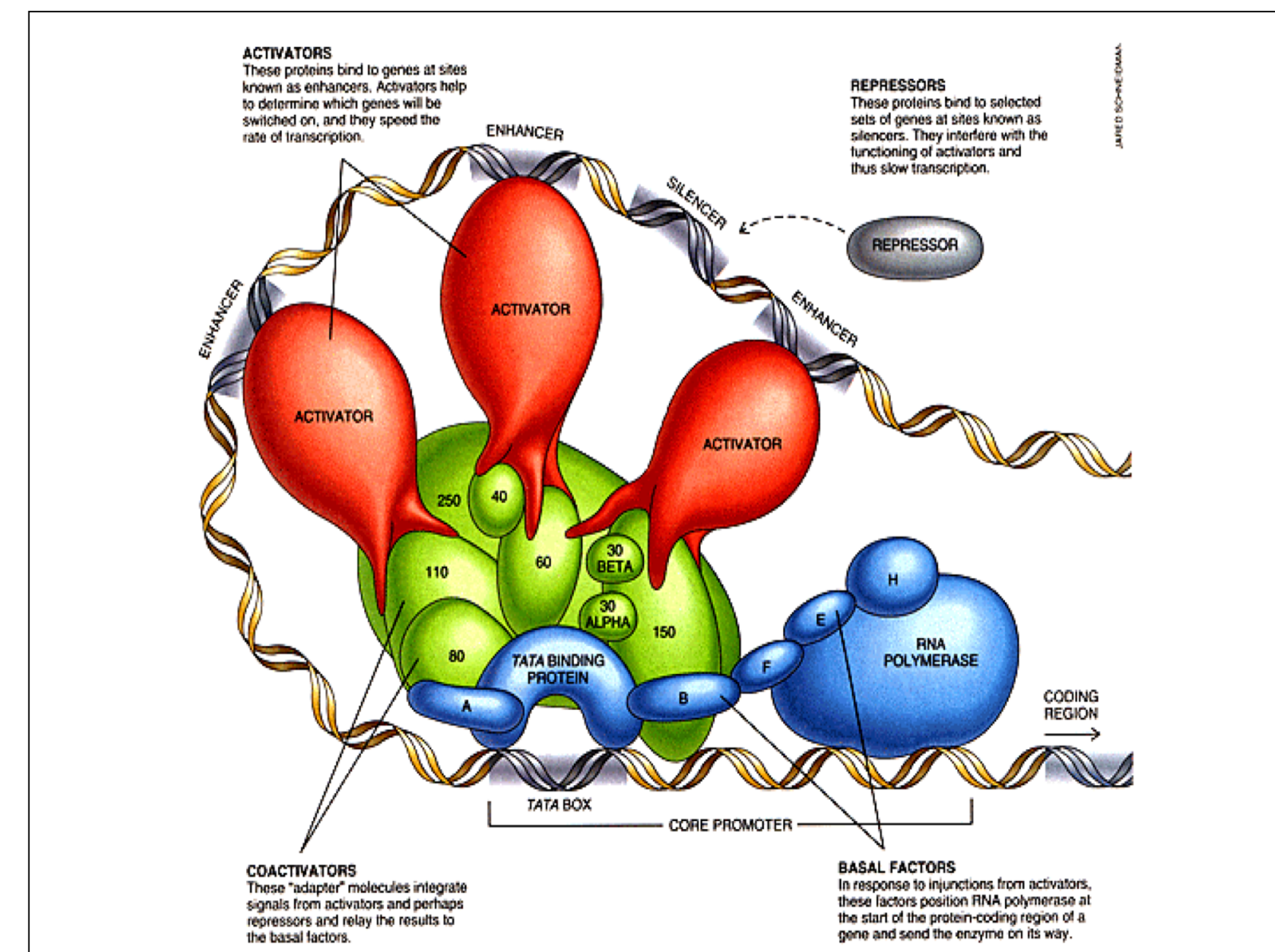
- DNA w jądrze komórki występuje w kompleksie z białkami (histony i inne)
- Różny stopień zwinięcia (upakowania) w zależności od funkcji i etapu cyklu komórkowego
- Aby gen mógł być aktywny chromatyna musi być rozluźniona
- Kondensacja chromatyny hamuje ekspresję
  - metylacja DNA
  - modyfikacje histonów
  - przykład - nieaktywny 1 z 2 chromosomów X





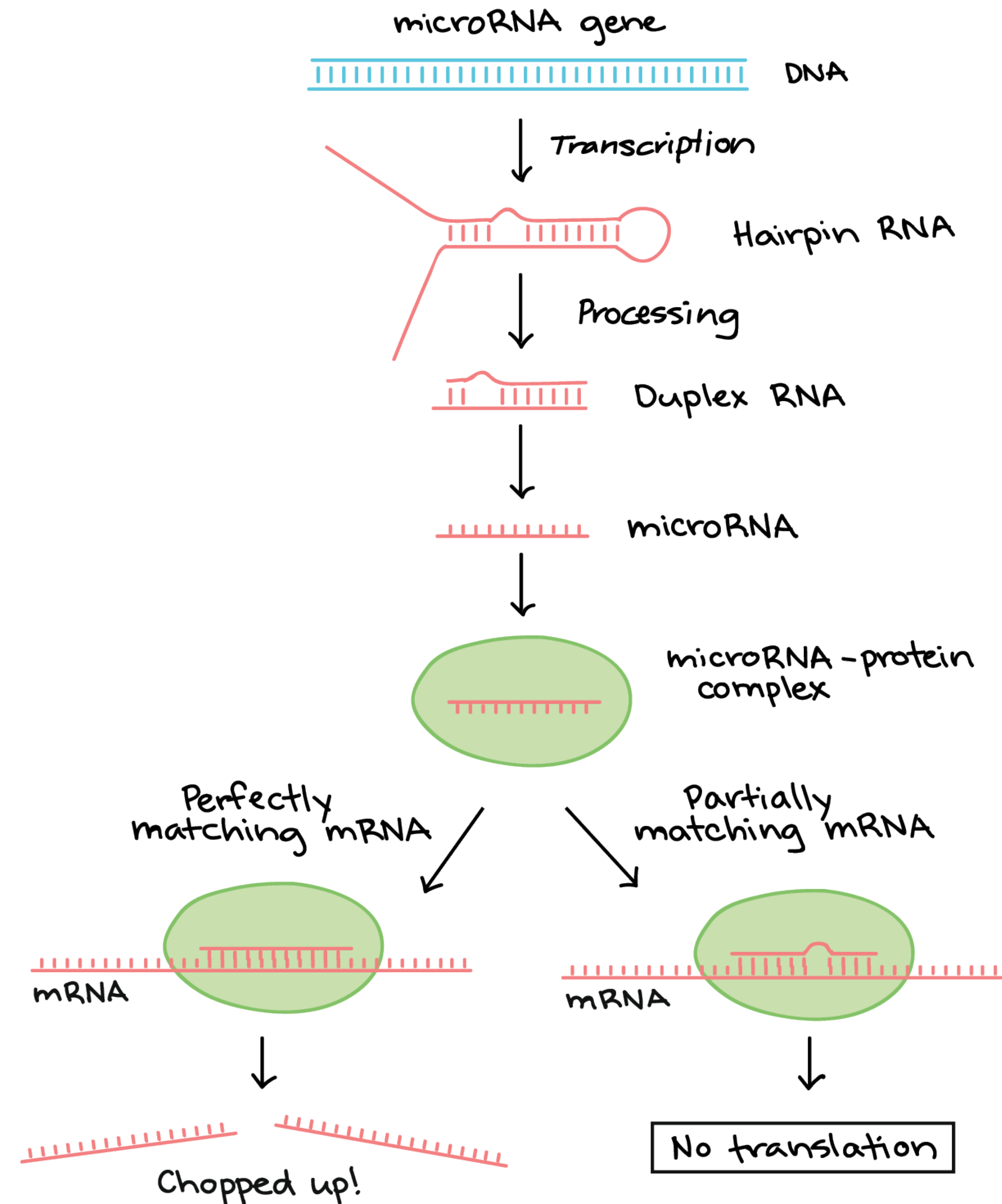
# Transkrypcja

- Aby gen był aktywny musi zachodzić transkrypcja
- Inicjacja transkrypcji zależy od interakcji licznych białek z obszarami regulatorowymi w DNA
  - promotory - podstawowy poziom transkrypcji
  - wzmacniacze (enhancery)
- Białka regulatorowe mogą być aktywatorami albo represorami
- Regulacja kombinatoryczna



# Małe RNA regulatorowe

- Mechanizm regulacji genów u roślin i zwierząt odkryty na początku XXI w.
- Krótkie dwuniciowe cząsteczki RNA
  - wytwarzane przez komórkę - mikroRNA (miRNA)
  - pochodzące z zewnątrz - siRNA
- Hamują ekspresję genu
  - przez hamowanie translacji albo degradację mRNA
- Jeden miRNA działa na wiele różnych genów
  - regulują rozwój i różnicowanie, ważne w nowotworach



# Epigenetyka

---

- Zmiany ekspresji genu mogą być bardzo trwałe
- Zmiana regulacyjna, która jest trwała i utrzymuje się w kolejnych pokoleniach (komórek lub całego organizmu) - **zmiana epigenetyczna**
  - zmiana fenotypu bez zmiany sekwencji DNA
- Mechanizmy: np. metylacja DNA (częsta u zwierząt), trwałe RNA regulatorowe

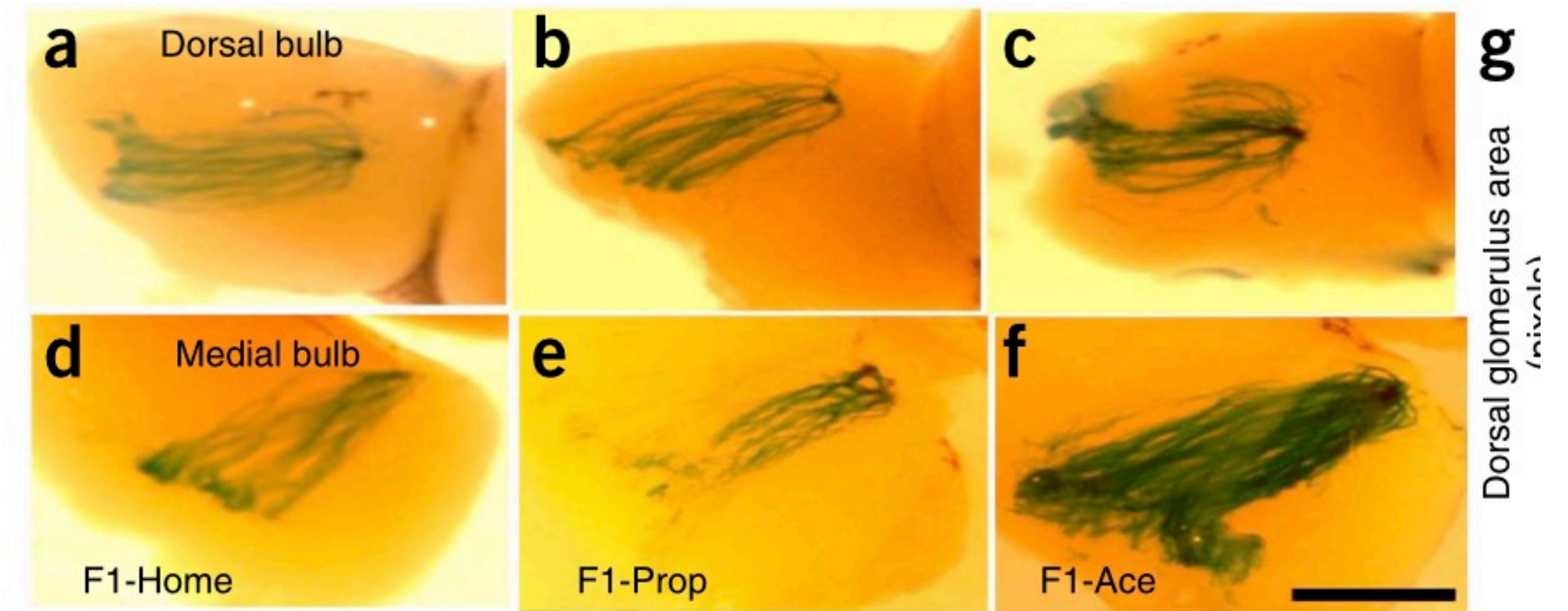
# Dziedziczenie epigenetyczne

---

- Wzór ekspresji regulowany przez mechanizmy takie, jak struktura chromatyny (metylacja DNA), miRNA, czy dodatnie sprzężenie zwrotne, utrzymywany przy podziale komórki - dziedziczony
- U organizmów wielokomórkowych zwykle “reset” podczas gametogenezy
- Zdarza się, że epigenetyczna zmiana wzoru ekspresji utrzymuje się przez kolejne pokolenia (nie jest wymazywana przy gametogenezie)
- tzw. transpokoleniowe dziedziczenie epigenetyczne (*transgenerational epigenetic inheritance*)

# Dziedziczenie stresu?

- Myszy warunkowane stresem na wrażliwość na bodziec zapachowy (acetofenon) w pokoleniu F0
- Zwiększona wrażliwość na bodziec zapachowy utrzymuje się w pokoleniu F1 i F2 - przekazywane przez gamety (zapłodnienie *in vitro*, rodzice zastępczy)
- Zwiększona ekspresja receptora acetofenonu (gen *Olf151*) związana z hipometylacją promotora genu
- Neuroanatomiczne elementy szlaku *Olf151* bardziej rozrośnięte



## Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations

Brian G Dias<sup>1,2</sup> & Kerry J Ressler<sup>1-3</sup>

NATURE NEUROSCIENCE VOLUME 17 | NUMBER 1 | JANUARY 2014

# U ludzi

- Są dane sugerujące, że dieta (obfitość pożywienia) rodziców wpływa na cechy metabolizmu kolejnych pokoleń (do pokolenia wnuków)
- Związek z zapadalnością na cukrzycę i choroby metaboliczne
- Badanie z Överkalix (Szwecja)
- Badania holenderskie - dzieci urodzone w czasie głodu (1944)
  - zmiany metylacji promotora genu *IGF2* utrzymujące się przez ponad 60 lat
- dotyczy dzieci poczętych w trakcie głodu

## Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period

G Kaati<sup>1</sup>, LO Bygren<sup>\*,1</sup> and S Edvinsson<sup>2</sup>



European Journal of Human Genetics (2002) 10, 682–688  
© 2002 Nature Publishing Group All rights reserved 1018–4813/02 \$25.00

www.nature.com/ejhg

## Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans

Bastiaan T. Heijmans<sup>a,1,2</sup>, Elmar W. Tobi<sup>a,2</sup>, Aryeh D. Stein<sup>b</sup>, Hein Putter<sup>c</sup>, Gerard J. Blauw<sup>d</sup>, Ezra S. Susser<sup>e,f</sup>, P. Eline Slagboom<sup>a</sup>, and L. H. Lumey<sup>e,1</sup>

17046–17049 | PNAS | November 4, 2008 | vol. 105 | no. 44

Table 1. *IGF2* DMR methylation among individuals periconceptionally exposed to famine and their unexposed, same-sex siblings

<i>IGF2</i> DMR methylation	Mean methylation fraction (SD)		Relative change exposed	Difference in SDs	<i>P</i>		
	Exposed ( <i>n</i> = 60)	Controls ( <i>n</i> = 60)					
Average	0.488	(0.047)	0.515	(0.055)	–5.2%	–0.48	$5.9 \times 10^{-5}$
CpG 1	0.436	(0.037)	0.470	(0.041)	–6.9%	–0.78	$1.5 \times 10^{-4}$
CpG 2 and 3	0.451	(0.033)	0.473	(0.055)	–4.7%	–0.41	$8.1 \times 10^{-3}$
CpG 4	0.577	(0.114)	0.591	(0.112)	–2.3%	–0.12	.41
CpG 5	0.491	(0.061)	0.529	(0.068)	–7.2%	–0.56	$1.4 \times 10^{-3}$

# Nadinterpretacje

---

- Zjawisko dziedziczenia epigenetycznego bywa nadinterpretowane
- Nie jest prawdą, że podważa to całość genetyki, że fenotyp nie zależy od genów
  - epigenetyka polega na regulacji **genów**
- Nie jest prawdą, że podważa to ewolucję darwinowską
  - to nie jest powrót do Lamarcka
  - daje zwiększenie plastyczności fenotypowej, ale długofalowe zmiany ewolucyjne muszą wiązać się ze zmianami w DNA
- Nie oznacza to, że dziedziczymy w genach stresy rodziców
  - w eksperymencie z myszami warunkowanie dotyczyło bodźca wykrywanego przez jeden receptor, większość bodźców tak nie działa
- Nie oznacza to, że możemy zapanować nad genami (np. w nowotworach) siłą woli!



🏠 > News > Science

## Nasa astronaut twins Scott and Mark Kelly no longer genetically identical after space trip

[Space.com](#) > [Science & Astronomy](#)

## Astronaut Scott Kelly and His Twin Brother Are Still Identical, NASA Says

By Elizabeth Howell, Space.com Contributor | March 16, 2018 03:00pm ET



Twin astronauts Scott and Mark Kelly pose at Johnson Space Center in Houston on Jan. 19, 2015, before Scott Kelly's nearly yearlong stay on the International Space Station.