



Programa de FISIOLÓGÍA Y GENÉTICA DE BACTERIAS

Carrera/s: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Fisiología y Genética de Bacterias*

Núcleo al que pertenece: *Obligatorio (Ciclo Superior)*¹

Profesores: *Claudio Valverde, Patricio Sobrero*

Correlatividades previas: *Ingeniería Genética I*

Objetivos:

A través de una serie de trabajos experimentales y de la discusión y análisis de publicaciones científicas y situaciones problema, el curso aspira a: 1) consolidar en la/os estudiantes una serie de conceptos temáticos básicos de bacteriología detallados en contenidos mínimos y programa analítico; 2) generar destreza en la manipulación de bacterias en el laboratorio y en la observación, registro y análisis crítico de fenómenos vinculados a actividades fisiológicas de las bacterias en cultivos puros o en interacciones con otros micro o macroorganismos, ya sea en contextos genéticos silvestres o resultantes de su modificación genética deliberada mediante diversos mecanismos.

Contenidos mínimos:

Organización estructural, diversidad, cultivabilidad y preservación de procariotas. Replicación y segregación del ADN, ciclo celular, citoesqueleto y mitosis procariótica. Mutaciones espontáneas y mecanismos de reparación. Mutagénesis inducida (específica y generalizada). Sistemas de restricción-modificación y CRISPR, y sus aplicaciones. Transcripción del ADN y traducción del mRNA: bases, regulación y métodos de estudio. ARNs no codificantes. Estructura genómica: genoma núcleo y genoma accesorio, elementos genéticos móviles y mecanismos de transferencia horizontal génica, aspectos evolutivos y aplicaciones. Respuestas a estímulos ambientales: segundos mensajeros

¹ En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo de Orientación. Para el Plan Res CS N° 181/03 pertenece al Núcleo Orientado, y se denomina "Fisiología y genética de Microorganismos".

(AMPc, ppGpp, c-diGMP), transducción de señales (sistemas de dos componentes, sistemas sigma-antisigma, reguladores globales y proteína-quinazas), tipos de movimiento en procariotas. Comunicación intercelular vía quorum sensing: principio, señales y modelos, biosensores, aplicaciones biotecnológicas. Modelos de diferenciación celular: esporulación, heterocistos y división celular asimétrica. Biopelículas (biofilms) como organismo multicelular procariótico, su importancia en procesos naturales y patológicos, ciclo de “vida” y determinantes genéticos. Ingeniería metabólica: concepto y ejemplos de estrategias para la producción de metabolitos primarios y secundarios. Bases moleculares de la interacción procariota-hospedador (señales, factores de virulencia, islas de patogenicidad, sistemas de secreción, regulación global y diferenciación celular); casos de estudio: Pseudomonas aeruginosa en fibrosis quística, Salmonella-epitelio intestinal, Pseudomonas protegens-raíces-hongos fitopatógenos, rizobios-raíces de leguminosas.

Carga horaria semanal:

6 (seis) horas.

Programa analítico:

Unidad 1. Organización estructural, diversidad, cultivabilidad y preservación de bacterias.

Organización estructural de las bacterias. Métodos de análisis de la diversidad bacteriana. Hábitat y requerimientos nutricionales. Crecimiento en el laboratorio. Métodos de preservación de bacterias. Bacterias no cultivables.

Unidad 2. Almacenamiento y mantenimiento de la información genética.

Mecanismo y maquinaria de replicación del ADN cromosomal. “Citoesqueleto” y aparato “mitótico” bacteriano. Coordinación de la segregación de cromosomas y la división celular. Sistemas de partición. Mutaciones espontáneas y mecanismos de reparación. El proceso de recombinación. Mutagénesis inducida (específica y generalizada). Sistemas de restricción-modificación.

Unidad 3. Utilización de la información genética y su regulación.

La transcripción del ADN y su regulación: propiedades de la ARN polimerasa, los factores sigma, promotores, terminadores transcripcionales, secuencias regulatorias, reguladores transcripcionales, efectos de retorcimiento (bending) del ADN. Mecanismos de regulación de inicio y elongación transcripcional. Regulación post-transcripcional mediada por proteínas regulatorias y elementos de ARN en cis o en trans (“riboswitches” y termosensores, ARNs no codificantes o “riboreguladores”). La traducción del ARNm y su regulación. Acoplamiento

traduccional. Mecanismos de regulación post-traduccional. Métodos para el estudio de la expresión genética y su regulación en bacterias: genes reporteros, análisis de promotores, transcriptomas, proteomas, metabolomas. Los sistemas Cas-CRISPR y sus aplicaciones biotecnológicas.

Unidad 4. Movilidad de elementos génicos y mecanismos de transferencia horizontal de genes.

Secuenciación de genomas bacterianos. Genoma núcleo y genoma móvil; elementos génicos móviles. Transformación: competencia natural e inducida; mecanismos. Conjugación: propiedades de los plásmidos, elementos génicos, regulación del número de copia, incompatibilidad plasmídica, sistemas de partición y sistemas toxina-antitoxina o de “adicción plasmídica”. Transducción: bacteriófagos líticos y lisogénicos.

Unidad 5. Fisiología y genética de las respuestas a estímulos ambientales. Mecanismos de transducción de señales.

Respuestas a situaciones de estrés: limitación nutricional, pH, temperatura, osmótico. Segundos mensajeros bacterianos (AMPc, ppGpp, c-diGMP). Transducción de señales: rol de los sistemas de dos componentes, los reguladores globales y proteína-quinasas de serina/treonina/tirosina. Fenómenos “tácticos” (quimiotaxis, aerotaxis) y tipos de movimiento bacteriano.

Unidad 6. Comunicación intercelular.

Los sistemas de “*quorum sensing*”: principio de funcionamiento y diversidad de sistemas en procariotas. Modelos: *Vibrio* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp. Mecanismos de interferencia. Señalización entre procariotas y eucariotas. Aplicaciones biotecnológicas.

Unidad 7. Diferenciación celular. Películas bacterianas.

Fisiología y genética de modelos de diferenciación celular: esporulación en *Bacillus subtilis*, formación de heterocistos y fijación de nitrógeno en cianobacterias, ciclo de vida en *Caulobacter crescentus*. Las poblaciones bacterianas como un organismo multicelular: biopelículas (biofilms) y su importancia en procesos naturales y patológicos. El ciclo de “vida” de un biofilm. Determinantes genéticos.

Unidad 8. Plasticidad metabólica e Ingeniería metabólica.

Diversidad de rutas metabólicas: fuentes de energía y rutas de metabolismo primario en procariotas. Mecanismos regulatorios: represión catabólica,

asimilación de nitrógeno y síntesis de aminoácidos, síntesis de bases púricas y pirimidínicas, regulación de acumulación de glucógeno en *E. coli*. Metabolismo secundario: diversidad, regulación transcripcional, producción de antibióticos. Ingeniería metabólica: concepto y ejemplos.

Unidad 9. Interacciones entre bacterias y hospedadores.

Mecanismos comunes en la interacción bacteria-hospedador. Intercambio de señales, factores de virulencia e islas de patogenicidad, rol de los sistemas de secreción, regulación de la expresión genética y la diferenciación celular en modelos de interacción bacteria-hospedador. Casos de estudio: *Pseudomonas aeruginosa*-epitelio pulmonar en la fibrosis quística, *Salmonella*-epitelio intestinal, *Pseudomonas protegens*-raíces-hongos fitopatógenos, *Frankia* spp. y rizobios - raíces de actinorrizas y leguminosas. Métodos de estudios de expresión diferencial de genes en la interacción.

Trabajos experimentales previstos

IMPORTANTE: En ocasiones será necesario concurrir al laboratorio a realizar manipulaciones, toma de datos u observaciones de resultados, fuera de los horarios del curso; esto se coordinará cuando sea necesario con al menos un integrante de cada uno de los grupos de trabajo.

Se conformarán grupos de trabajo para realizar los siguientes TP's.

TP 1: Aislamiento de *Pseudomonas* rizosféricas fluorescentes y ensayos microbiológicos de promoción de crecimiento vegetal.

Objetivos

- Obtener una imagen de la diversidad de microorganismos mesófilos cultivables presentes como flora natural en la rizósfera de diversas plantas.
- Obtener aislamientos de bacterias del grupo de las *pseudomonas* fluorescentes a partir de la flora natural rizosférica de distintos ejemplares de plantas, utilizando un medio de cultivo selectivo e indicador para el grupo.
- Evaluar algunas propiedades de los aislamientos con potencial interés biotecnológico (producción de antibióticos, secreción de proteasas, capacidad de solubilización de fosfatos inorgánicos) mediante ensayos preliminares de screening.
- Confirmar la pertenencia de los aislamientos al género *Pseudomonas* y analizar su diversidad mediante una aproximación molecular.

Breve descripción

En este trabajo práctico el/la estudiante se familiarizará con las técnicas básicas experimentales de un laboratorio de microbiología. Se procederá a realizar una "marcha" para lograr aislar microorganismos pertenecientes al género *Pseudomonas*, a partir de plantas cedidas por los alumnos del curso y utilizando un medio selectivo y diferencial para el género y grupo. Una vez obtenidos dichos aislamientos, se realizarán una serie de pruebas fenotípicas para evaluar características de interés para una potencial

aplicación del microorganismo como “promotor de crecimiento vegetal”. Por último, se utilizará la técnica de RFLP sobre un fragmento de PCR que contiene un gen específico del género para declarar su pertenencia al mismo y la relación filogenética entre los aislamientos.

TP2: Conservación de cepas.

Objetivos

- Que el alumno se familiarice con técnicas básicas para la conservación de cepas microbiológicas.
- Evaluar diferentes métodos de conservación basados en la recuperabilidad mediante un conteo de viables.

Breve descripción

Se evaluarán 4 métodos de conservación típicos en un laboratorio de Microbiología. Se utilizará como material de partida, un aislamiento de *Pseudomonas* obtenido durante el TP1. Para determinar la eficiencia del método de conservación, se realizará un conteo de viables a fin de cuantificar la recuperabilidad del aislamiento luego de 2 meses sometido al método de conservación. A partir del mismo conteo, se inspeccionarán la morfología de las colonias con fin de establecer si ocurren cambios luego de la conservación. Dicha cuantificación será relativa al recuento inicial previo a establecer las condiciones de conservación.

TP3: Efecto letal de la radiación UV, fotoreparación y reparación mutagénica.

Objetivos

- Determinar el efecto letal de la radiación ultravioleta, a partir de una cinética de muerte mediante recuento de viables en placa.
- Evidenciar el fenómeno de fotoreparación de daños generados por la radiación UV.
- Evaluar el efecto mutagénico de la luz UV a partir de la reversión fenotípica de un mutante auxótrofo para la síntesis de arginina.

Breve descripción

En este trabajo práctico el/la estudiante se familiarizará con el manejo dentro de una cabina de flujo laminar de bioseguridad 2. Se utilizará como fuente de radiación UV, el tubo germicida presente dentro de dicha cabina.

En la primera experiencia, procederemos a la determinación del efecto letal de la radiación UV a partir de un recuento de viables en placa luego de la inoculación con una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* auxótrofa para los aminoácidos arginina y lisina. El recuento se efectuará en un medio complejo y rico, con el fin de promover el crecimiento de la cepa auxótrofa. El procedimiento se realizará por duplicado, con el objetivo de realizar una incubación posterior en oscuridad o en presencia de luz blanca. La misma, activará el sistema de fotoreparación mediante la enzima fotoliasa, permitiéndonos evaluar la contribución de este mecanismo de reparación de daños al ADN a la viabilidad del microorganismo.

En la segunda experiencia, utilizaremos dicha cepa auxótrofa evaluar el efecto mutagénico de la luz UV, a partir de la reversión fenotípica para el aminoácido arginina (a partir del plaqueo en un medio definido suplementado con lisina). De la misma

manera, buscaremos ver la contribución de la fotoreparación, mediante la incubación posterior bajo la luz blanca.

TP4: Inducción y represión catabólica del operón lac en *Escherichia coli*.

Objetivos

- Utilizando como modelo al operón lac de *E. coli*, a través de los fenómenos de inducción y represión catabólica, observaremos los cambios de expresión génica mediante la actividad biológica de una enzima codificada dentro del operón, la β -galactosidasa.
- Evaluar la actividad β -galactosidasa mediante métodos cuantitativos y cualitativos

Breve descripción

En este trabajo práctico, el/la estudiante se familiarizará con técnicas básicas para el manejo de medios de cultivos líquidos, toma de muestras y preparación para la medición de una actividad enzimática. Se utilizará como modelo el operón lac de *E. coli* para evaluar el efecto de la fuente de carbono (Glucosa o Glicerol), presencia o ausencia de un análogo no hidrolizable de la lactosa (IPTG) y la presencia del segundo mensajero AMPc, sobre los niveles de expresión del operón lac. Dichos niveles serán cuantificados a partir de la medición de la actividad de la enzima β -galactosidasa utilizando un sustrato cromogénico que brinda la posibilidad de determinar la cantidad de producto generado mediante una lectura espectrofotométrica. Por otro lado, utilizando diferentes mutantes del operón lac, evidenciaremos la actividad β -galactosidasa en placa utilizando el sustrato cromogénico X-gal. En ambos casos, estas técnicas permitirán que el alumno se interiorice con metodologías utilizadas ampliamente en estudios regulatorios de la expresión genética en bacterias.

TP5: Transferencia horizontal de material genético - Transducción generalizada

Objetivos

- Utilizar un fago específico para movilizar (transducir) los genes *argH* y *lysA* - implicados en la biosíntesis de arginina y lisina - desde la cepa silvestre *P. aeruginosa* PAO1 al mutante *P. aeruginosa* PAO372, auxótrofo para arginina y lisina.
- Evaluar la frecuencia de transducción de cada marcador.

Breve descripción

El/la estudiante se familiarizará con las técnicas básicas para la manipulación de bacteriófagos. Se procederá a la propagación del fago E79-tv2, con el fin de obtener partículas fágicas transductantes (carecen de ADN fágico, introduciendo ADN del huésped en su cápside). Se buscará la selección de eventos de transducción a partir del cocultivo de los fagos con una cepa susceptible, que presenta una doble auxotrofia para los aminoácidos arginina y lisina. De esta manera, el evento de transducción se manifestará por la reversión fenotípica de estos marcadores a partir del crecimiento en medio definidos. El análisis de datos de frecuencia de transducción de cada marcador o ambos marcadores, frente a los controles respectivos permite además discutir la existencia de los eventos de cotransducción, fenómeno que además puede discutirse en el marco de la información genómica disponible del microorganismo modelo y del fago utilizado.

TP6: Transferencia horizontal de material genético - Conjugación triparental.

Objetivos

- Movilizar un plásmido desde *E. coli* a una cepa de *Pseudomonas protegens* utilizando una conjugación triparental.
- Determinar la frecuencia de conjugación para dicho plásmido.
- Comparar dicha frecuencia utilizando un medio sólido o líquido como soporte.

Breve descripción

En este trabajo práctico, se movilizará un plásmido de una cepa dadora (*E. coli*) a su cepa aceptora (*P. protegens*) utilizando un plásmido *helper*, aportado en trans por otra cepa de *E. coli*. De esta manera, se podrán seleccionar los transconjugantes en *P. protegens* mediante selección antibiótica y observación bajo la luz UV, dado que el plásmido contiene el gen codificante para la proteína GFP bajo un promotor constitutivo en *Pseudomonas*. La mezcla de conjugación, que contiene a las tres cepas mencionadas, será incubada en un soporte sólido agarizado o en medio líquido, de manera de poder manifestar diferencias en la eficiencia del proceso de conjugación.

TP7: Análisis de producción de moléculas de comunicación intercelular (*quorum sensing*) del tipo AHLs.

Objetivos

- Evidenciar la producción de moléculas tipo acil-Homoserino lactonas (AHL), implicadas en la regulación de los fenómenos de quorum sensing, mediante el uso de sistemas reporteros in vivo.

Breve descripción

En este trabajo práctico, utilizando los aislamientos del género *pseudomonas* obtenidos en el TP 1, pretendemos manifestar la capacidad de producción de moléculas del tipo AHL, que sean reactivas frente a un sistema reportero. El mismo, está basado en la bacteria *C. violaceum*, capaz de producir un pigmento violeta (violaceína) con actividad antibiótica. La síntesis de violaceína posee una regulación positiva ejercida por los mecanismos de *quorum sensing* en el que es fundamental la producción de la molécula señal N-hexanoil-L-homoserinlactona (HHL). Como cepa reportera, se utiliza el mutante 12E1B, que no puede sintetizar esta molécula y entonces las colonias son blanquecinas, pero no deja de "sentir" la presencia de HHL en el medio. Esto es la base de un bioensayo para determinar la producción de este tipo de señales por parte de otras bacterias, cuando éstas se co-cultivan con el mutante CV026/12E1B (cepa "reportera" que no produce AHL pero responde a su presencia). La presencia de AHLs exógenas activa entonces la síntesis de violaceína en *C. violaceum*.

TP8: Mutagénesis generalizada mediada por el transposón Tn5

Objetivos

- Generar una biblioteca de mutantes insercionales utilizando al transposón Tn5.
- Realizar un screening de dicha biblioteca sobre un fenotipo de interés.

- Utilizar métodos moleculares e *in silico* para determinar los sitios de inserción del transposón y correlacionar la función de los genes interrumpidos con el fenotipo observado.

Breve descripción

Para observar la simpleza y utilidad del sistema de transposición de Tn5, utilizaremos el vector pBAMD1-2 (miniTn5) como agente mutagénico aleatorio para identificar factores (genes) requeridos para la producción de fenazinas (pigmento anaranjado) y para la actividad proteolítica extracelular de la cepa *P. chlororaphis* SMMP3. Luego de movilizar el vector pBAMD1-2 (miniTn5) a la cepa SMMP3, será posible seleccionar clones cuya actividad proteolítica extracelular y/o su pigmentación se haya modificado como consecuencia de la integración de Tn5 en regiones del cromosoma que son necesarias para la expresión y regulación de su expresión de los genes responsables de estas actividades biológicas. De esta forma, y a través de la subsiguiente identificación del sitio de inserción de Tn5, es posible identificar genes estructurales y regulatorios de la expresión de un fenotipo de interés a través de la búsqueda de mutantes generados al azar en los que haya cambiado el patrón normal de expresión.

TP9: Biofilms

Objetivos

- Evidenciar la capacidad de adhesión a superficies abióticas como una aproximación a la capacidad de formación de biofilm.

Breve descripción

Nos aproximaremos a la capacidad de formación de biofilm de los aislamientos obtenidos en el TP1, a partir de la medida cuantitativa de adhesión sobre superficies abióticas. Para tal fin, los aislamientos se crecerán en placas de poliestireno y se estimará la capacidad de adhesión mediante la tinción con cristal violeta. De esta manera, mediante una simple lectura fotométrica, es posible estimar la capacidad de adhesión de la cepa y correlacionar con la formación de biofilms.

TP10: Interacciones entre bacterias y eucarióticas.

Objetivos

- Utilizando microscopia de fluorescencia y bacterias marcadas con gfp, observar los estadios tempranos en la interacción específica entre rizobios y plantas leguminosas.
- Estudiar el efecto antagonista de cepas de *Pseudomonas* productoras de metabolitos secundarios, sobre la viabilidad de nematodos, y evaluar el impacto de mutaciones en genes regulatorios de la producción de metabolitos.

Breve descripción

El/la alumno/a realizará 2 experiencias con el fin de observar el efecto de interacciones benéficas y antagónicas entre bacterias y organismos eucariotas.

Como caso de una interacción benéfica, realizaremos una práctica demostrativa para observar el resultado de la interacción entre raíces de alfalfa y la bacteria *Sinorhizobium meliloti*, simbionte específico de esta leguminosa. Para visualizar los diferentes estadios de esta interacción, contamos con rizobios que expresan la proteína fluorescente GFP. Estos rizobios serán inoculados sobre plantines de alfalfa en un sistema de crecimiento hidropónico que permite visualizar el crecimiento de la raíz y el desarrollo de los nódulos radiculares, producto de dicha interacción. Secciones de las raíces inoculadas y control,

serán analizadas bajo microscopio de fluorescencia a diferentes aumentos, para ilustrar las etapas del proceso de nodulación.

En el caso de una interacción antagónica, utilizaremos la bacteria biocontrol *P. protegens* CHA0 y una serie de mutantes regulatorios sobre la síntesis de metabolitos secundarios, con el fin de observar su efecto tóxico sobre nematodos. Para este fin, realizaremos un cocultivo en placa de las bacterias junto a los organismos eucariotas. A partir de la observación con lupas, se realizará un conteo de organismos vivos y su estado actividad locomotora (como síntoma de toxicidad).

Discusión de publicaciones científicas (papers)

Se seleccionarán artículos científicos recientemente publicados en revistas periódicas que permitan ilustrar conceptos de cada Unidad temática. La/os alumna/os deberán leer los artículos para presentar en forma individual y discutir en forma grupal los aspectos relevantes de cada trabajo y su relación con los contenidos del curso.

Bibliografía (obligatoria y de consulta):

** “Brock Biología de los Microorganismos”. Madigan et al. 12da edición. Pearson Ed.

** “Molecular Genetics of Bacteria”. Snyder & Champness. 3ra edición (2008); 4ta edición (2013), ASM Press.

** “Biology of the prokaryotes”. Lengeler et al. 1ra edición (1999). Blackwell Science.

“Molecular Genetics of Bacteria”. Dale JW. 4ta edición (2004); 5ta edición (2010). Wiley & Sons.

“The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes”. D. White. 3ra edición (2006), 4ta edición (2011). Oxford University Press.

“Structural and functional relationships in prokaryotes”. L. Barton. 1ra edición (2005). Springer.

** Disponibles en la Biblioteca de la UNQ. El resto de la bibliografía se proveerá en la forma de fotocopias o en formato electrónico.

Organización de las clases:

El curso es presencial y de base experimental. Consta de un conjunto de trabajos de laboratorio que atraviesan diferentes unidades temáticas del programa, y que se complementan con actividades de discusión de conceptos y metodologías a través del análisis de publicaciones científicas y de resolución de situaciones problema.

Modalidad de evaluación:

Se toman dos exámenes parciales, con su correspondiente jornada de recuperación. También se considera el desempeño en las clases experimentales, la calificación de los informes de TP's, y el desempeño en la presentación y/o discusión de publicaciones. La nota final del curso se compone del promedio de las evaluaciones parciales o la nota de la evaluación integradora, y se ajusta teniendo en cuenta las calificaciones de la parte práctica.

Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.
- (b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumnos/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

Modalidad de evaluación exámenes libres:

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

CRONOGRAMA TENTATIVO

Semana	Tema/unidad	Actividad*			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Res Prob.	Lab.	
1	Introducción al curso – Unidad 1	X	X		
2	Unidad 1. TP1	X	X	X	
3	Unidad 2. TP1/TP2	X	X	X	
4	Unidad 2/3. TP2	X	X	X	
5	Unidad 3. TP3	X	X	X	
6	Unidad 3/4. TP4	X	X	X	
7	Unidad 4. TP4/TP5	X	X	X	
8	Unidad 4. TP5/TP6. Examen	X	X	X	X
9	Unidad 5. TP7	X	X	X	
10	Unidad 5. TP7/TP8	X	X	X	
11	Unidad 6. TP8	X	X	X	
12	Unidad 6/7. TP8	X	X	X	
13	Unidad 7/8. TP9	X	X	X	
14	Unidad 8/9. TP8/10	X	X	X	
15	Unidad 9. Repaso. TP10/TP2		X		X
16	Discusión de <i>papers</i> . Examen				X
17	Recuperatorios. Discusión de <i>papers</i> .				X
18	Integrador				X

*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD