

## СОДЕРЖАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ЛИПИДОВ В ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНАХ МЫШИ ПРИ РАЗВИТИИ *IN VIVO* И *IN VITRO*

© 2022 г. Т. Н. Игонина<sup>а</sup>, Т. А. Рахманова<sup>а, б</sup>, И. Н. Рожкова<sup>а</sup>,  
Е. Ю. Брусенцев<sup>а</sup>, С. Я. Амстиславский<sup>а, \*</sup>

<sup>а</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
“Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения  
Российской академии наук”, пр. ак. Лаврентьева, д. 10, Новосибирск, 630090 Россия

<sup>б</sup>Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова, д. 2, Новосибирск, 630090 Россия

\*e-mail: amstis@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.05.2022 г.

После доработки 15.07.2022 г.

Принята к публикации 18.07.2022 г.

Изучение роли липидов в преимплантационном развитии млекопитающих является важной задачей современной эмбриологии. Цель настоящего исследования – с использованием метода конфокальной лазерной сканирующей микроскопии охарактеризовать динамику содержания внутриклеточных липидов преимплантационных эмбрионов мыши при развитии *in vivo* и *in vitro*. Развитие преимплантационных эмбрионов сопровождалось снижением общего уровня липидов на стадии бластоцисты в группе *in vivo* и на стадии морулы в группе *in vitro*. Кроме того, при культивировании эмбрионов *in vitro* общее содержание липидов в морулах и бластоцистах было ниже, чем у эмбрионов тех же стадий, развивавшихся *in vivo*. Таким образом, липидный метаболизм в ходе преимплантационного периода зависит от условий развития (*in vivo* или *in vitro*). На стадии образования бластоцисты количество внутриклеточных липидов существенно снижается.

**Ключевые слова:** мышь, преимплантационные эмбрионы, внутриклеточные липиды, нильский красный, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия, культивирование *in vitro*

DOI: 10.31857/S0475145022060039

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение роли внутриклеточных липидов в созревании ооцитов и в раннем преимплантационном развитии млекопитающих является важной фундаментальной проблемой современной эмбриологии (Arena et al., 2021; Igonina et al., 2021; Lawson et al., 2022). Липиды входят в состав внутриклеточных мембран и являются основным компонентом липидных гранул (ЛГ) (Ibayashi et al., 2021). Эти клеточные включения играют важную роль в хранении энергетического субстрата и поддержании целостности мембран клеток животных, а также влияют на клеточное ядро, участвуют в транспортировке жирных кислот (ЖК), экспрессии генов и защите от патогенов (Welte, 2015). Изучают влияние внутриклеточных липидов и на эффективность криоконсервации преимплантационных эмбрионов, в частности, эмбрионов мыши (Igonina et al., 2021).

На свинье была подробно изучена динамика изменения внутриклеточного содержания липидов в ходе созревания ооцитов и преимплантаци-

онного развития эмбрионов. В том числе было проведено сравнение уровня липидов в бластоцистах свиньи, развивавшихся *in vivo* и *in vitro* (Romek et al., 2011). Ооциты и преимплантационные эмбрионы свиньи чрезвычайно богаты липидами (Genicot et al., 2005; Romek et al., 2011). При этом их роль в ходе раннего развития свиньи достаточно хорошо изучена (Bradley, Swann, 2019). Мышь относится к видам с низким содержанием липидов в ооцитах и клетках преимплантационных эмбрионов (Genicot et al., 2005). Роль внутриклеточных липидов в раннем развитии мыши не столь очевидна и является предметом изучения для нескольких исследовательских групп (Watanabe et al., 2010; Bradley et al., 2016; Tatsumi et al., 2018; Aizawa et al., 2019; Брусенцев и др., 2020; Ibayashi et al., 2021; Arena et al., 2021).

Следует отметить, что лишь в двух работах произведена попытка изучить число и размер липидных гранул в ходе созревания ооцитов и раннего развития эмбрионов мыши (Watanabe et al., 2010; Bradley et al., 2016). Между тем, общее содер-

жание внутриклеточных липидов в ходе преимплантационного развития мыши до сих пор не изучено. В нашем предыдущем исследовании было проанализировано содержание внутриклеточных липидов при созревании ооцитов мыши (Брусенцев и др., 2020). Цель настоящего исследования – с использованием метода конфокальной лазерной сканирующей микроскопии охарактеризовать динамику содержания внутриклеточных липидов преимплантационных эмбрионов мыши при развитии *in vivo* и *in vitro*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте было использовано 58 половозрелых самок и 11 самцов мышей линии CD1 в возрасте от двух до трех месяцев. Животных содержали в SPF-виварии Института цитологии и генетики (Новосибирск, Россия) в индивидуально вентилируемых клетках OptiRAT (Animal Care, США) при температуре 22–24°C и влажности 40–50%; в качестве подстилки использовали опилки. Суточный цикл состоял из 12 ч дня и 12 ч ночи, с восходом в 4 ч утра и закатом в 16 ч. Животные имели постоянный доступ к автоклавированному стандартизированному корму “Sniff” (Soest, Германия) и очищенной воде, обогащенной минеральными добавками “Северянка” (Экопроект, Россия).

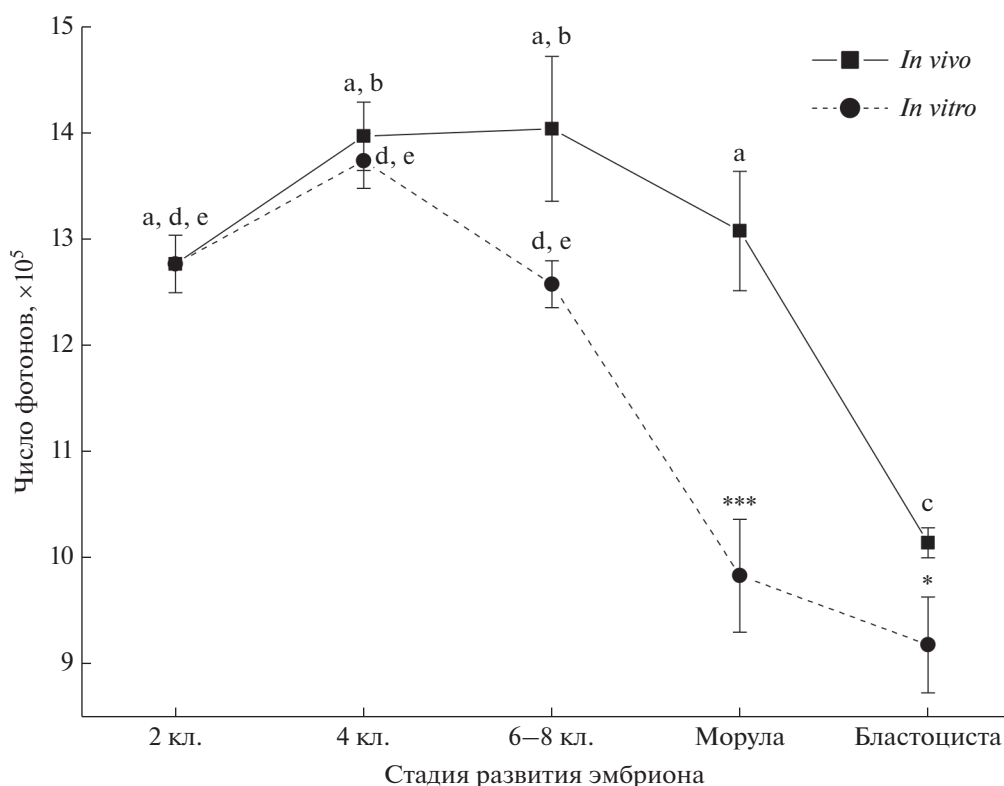
Были сформированы следующие группы: 1) преимплантационные эмбрионы, развивающиеся в условиях *in vivo*, полученные от самок-доноров на стадиях 2-клеток ( $n = 35$ ), 4-клеток ( $n = 23$ ), 8-клеток ( $n = 15$ ), морулы ( $n = 25$ ) и бластоцисты ( $n = 36$ ); 2) преимплантационные эмбрионы, развивающиеся в условиях *in vitro*, полученные от самок-доноров на стадиях 2-клеток и культивированные *in vitro* до 4-клеток ( $n = 29$ ), 8-клеток ( $n = 15$ ), морулы ( $n = 32$ ) и бластоцисты ( $n = 40$ ). В группу “бластоцисты” входили эмбрионы с полностью сформированной полостью.

У самок мышей CD1 индуцировали суперовуляцию путем инъекции 5 МЕ хорионического гонадотропина лошади (Фоллигон; Intervet international, B.V., Нидерланды) а затем, через 46 часов, 5 МЕ хорионического гонадотропина человека (Хорулон; Intervet international, B.V., Нидерланды). После чего, самок ссаживали на ночь с фертильными самцами этой же линии. Спаривание проверяли по наличию вагинальной пробки. Для получения преимплантационных эмбрионов на разных стадиях развития *in vivo* самок подвергали эвтаназии путем дислокации шейных позвонков через 24 ч после введения ХГЧ (2-клеточные), 36 ч (4-клеточные), 48 ч (8-клеточные), 72 ч (морулы) и 84 ч (бластоцисты). Яйцеводы и матку извлекали и промывали средой Flushing Solution (FertiPro, Бельгия).

Для экспериментов *in vitro* 2-клеточные эмбрионы получали описанным выше способом. Затем проводили их культивирование *in vitro* на 35 мм чашках Петри (Corning, США). Группы из 3–5 эмбрионов находились в 20 мкл каплях KSOM под минеральным маслом (Merck, Германия) при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> и влажности 90% в CO<sub>2</sub>-инкубаторе New Brunswick™ Galaxy 48R (Eppendorf, Германия). Эмбрионы культивировали в течение 12 ч (до стадии 4-х клеток), 24 ч (до стадии 8-ми клеток), 48 ч (до стадии морулы) и 72 ч (до стадии бластоцисты) Эмбриональное развитие контролировали визуально под микроскопом S8 APO (Leica Microsystems, Германия).

Оценку количества внутриклеточных липидов в преимплантационных эмбрионах проводили с помощью окрашивания нильским красным – Nile Red (Merck, Германия), как описано ранее (Romek et al., 2011). Фиксированные эмбрионы трижды отмывали от формальдегида в PBS, содержащем 1 мг/мл ПВП, по 5 мин в каждой капле при комнатной температуре. Затем, для достижения максимальной интенсивности окрашивания внутриклеточных липидов, их инкубировали в растворе нильского красного с концентрацией 10 мкг/мл в течение трех часов при 37°C. Образцы помещали на предметные стекла в PBS. Изображения получали с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа 780 NLO Axio Observer Z1 (Carl Zeiss, Германия) с использованием программного обеспечения Zen 2012 (Carl Zeiss, Германия). Эмбрионы, окрашенные нильским красным, облучали газовым аргоновым лазером (максимальная мощность 30 мВт) при 0.1% от максимальной мощности на длине волны 488 нм. Спектры получали в диапазоне длин волн 494–687 нм с шагом 9 нм. Оценку каждого эмбриона производили в течение двух минут. Все изображения были получены в режиме подсчета фотонов – “photon counting”. То есть была подсчитана сумма всех фотонов со ста оптических срезов на каждый эмбрион. Суммирование оптических срезов и вычитание фоновой флуоресценции выполняли с помощью программы ImageJ. Микроскопическое работы выполнены в ЦКП “Микроскопического анализа биологических объектов” ИЦиГ СО РАН (<https://ckp.icgen.ru/ckpmabo>).

Данные анализировали с помощью программы STATISTICA v 8.0 StatSoft, Inc. Проверка распределения на нормальность проводилась с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для обсчета данных использовали многофакторный дисперсионный анализ (Factorial ANOVA) с последующим апостериорным сравнением (Fisher LSD). Интенсивность флуоресценции липидов (число фотонов) представлена, как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $M \pm SEM$ ). Различия при  $p < 0.05$  считали статистически достоверными.



**Рис. 1.** Динамика содержания липидов в преимплантационных эмбрионах мыши. <sup>a</sup>  $p < 0.001$  по сравнению с бластоцистами *in vivo*; <sup>b</sup>  $p < 0.05$  по сравнению с двухклеточными эмбрионами *in vivo*; <sup>c</sup>  $p < 0.001$  по сравнению с двухклеточными эмбрионами *in vitro*; <sup>d</sup>  $p < 0.001$  по сравнению с морулами *in vitro*; <sup>e</sup>  $p < 0.001$  по сравнению с бластоцистами *in vitro*; \*  $p < 0.05$  по сравнению с бластоцистами *in vivo*; \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с морулами *in vivo*.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Данные по интенсивности флуоресценции (числу фотонов, чф), полученные при изучении преимплантационных эмбрионов разных стадий, развивавшихся *in vivo* и *in vitro*, представлены на рис. 1. Репрезентативные иллюстрации по каждой стадии развития представлены на рис. 2. Анализ данных с помощью Factorial ANOVA показал статистически значимое влияние на число фотонов таких факторов, как “условия развития эмбрионов” (*in vivo* или *in vitro*) ( $F_{1,275} = 20.36, p = 0.00001$ ) и “стадия развития эмбриона” ( $F_{4,275} = 40.20, p = 0.0000$ ), а также взаимодействие этих факторов ( $F_{4,275} = 5.57, p = 0.00025$ ).

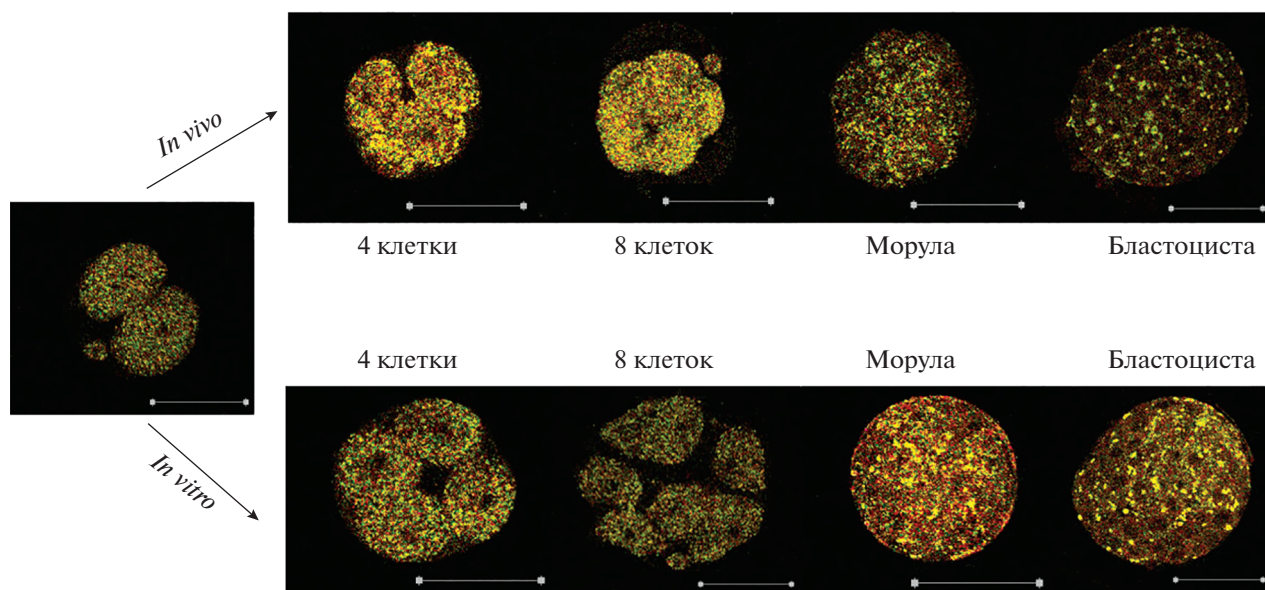
Развитие преимплантационных эмбрионов сопровождалось снижением содержания липидов, которое наблюдали на стадии бластоцисты в группе *in vivo* и на стадии морулы в группе *in vitro*. Анализ *post-hoc* при помощи Fisher LSD теста показал большее содержание липидов ( $p < 0.001$ ) в развивающихся *in vivo* эмбрионах на стадиях 2 кл. (чф  $12.8 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ), 4 кл. (чф  $14.0 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ), 6–8 кл. (чф  $14.0 \times 10^5 \pm 0.7 \times 10^5$ ) и морулы (чф  $13.1 \times 10^5 \pm 0.6 \times 10^5$ ) по сравнению с бластоцистами (чф  $10.1 \times 10^5 \pm 0.1 \times 10^5$ ). Более того,

развивающиеся *in vivo* эмбрионы на стадии 4 кл. (чф  $14.0 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ) и 6–8 кл. (чф  $14.0 \times 10^5 \pm 0.7 \times 10^5$ ) имели большее содержание липидов по сравнению с двухклеточной стадией (чф  $12.8 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ) ( $p < 0.05$ ). В то же время, развивающиеся *in vitro* эмбрионы имели большее содержание липидов ( $p < 0.001$ ) на стадиях 2 кл. (чф  $12.8 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ), 4 кл. (чф  $13.7 \times 10^5 \pm 0.3 \times 10^5$ ) и 6–8 кл. (чф  $12.6 \times 10^5 \pm 0.2 \times 10^5$ ) по сравнению с морулами (чф  $9.8 \times 10^5 \pm 0.5 \times 10^5$ ) и бластоцистами (чф  $9.2 \times 10^5 \pm 0.5 \times 10^5$ ).

Кроме того, при культивировании эмбрионов *in vitro*, общее содержание липидов в морулах ( $p < 0.001$ ) и бластоцистах ( $p < 0.05$ ) было ниже, чем у эмбрионов тех же стадий, развивавшихся *in vivo* (чф  $9.8 \times 10^5 \pm 0.5 \times 10^5$  и  $13.1 \times 10^5 \pm 0.6 \times 10^5$ ; чф  $9.2 \times 10^5 \pm 0.5 \times 10^5$  и  $10.1 \times 10^5 \pm 0.1 \times 10^5$  соответственно).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что у эмбрионов мыши на стадиях дробления внутриклеточные липиды не играют существенной роли как энергетический субстрат (Bradley, Swann, 2019). Поэтому мы ожидали, что в



**Рис. 2.** Содержание внутриклеточных липидов в эмбрионах мыши, развивающихся *in vivo* и *in vitro*. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия. Окрашивание нильским красным. Масштабный отрезок – 100 мкм.

ходе дробления их содержание в клетках эмбриона снижаться не будет. Однако в нашем исследовании было обнаружено, что у эмбрионов, полученных *in vivo*, содержание внутриклеточных липидов на стадиях 4-х и 8-и бластомеров повышается по сравнению со стадией 2-х бластомеров. Такого повышения не наблюдалось при развитии эмбрионов *in vitro*. Данная закономерность, наблюдаемая *in vivo*, может быть связана с развитием эмбрионов в естественной жидкости яйцевода. Эта жидкость состоит из множества компонентов, в том числе жирных кислот, которые проникают в клетки и используются для синтеза и накопления новых жиров (Ibayashi et al., 2021). С другой стороны, синтетическая питательная среда KSOM, которую мы использовали для культивирования эмбрионов, не содержит жирных кислот, а их переносчик, бычий сывороточный альбумин (БСА), присутствует в ней в низкой 1%-ной концентрации (Lawitts, Biggers, 1993). Именно этим, по всей вероятности, можно объяснить тот факт, что количество внутриклеточных липидов не повышается на стадиях дробления при развитии зародышей *in vitro*. На эмбрионах крупного рогатого скота были изучены последствия добавления в культуральную среду фетальной телячьей сыворотки (многокомпонентной смеси с варьирующим составом). У культивировавшихся в этой среде эмбрионов уровень внутриклеточных липидов (особенно на стадиях морулы и бластоцисты) был выше, чем у эмбрионов, развивавшихся *in vivo* (Abe et al., 1999). В нашей предыдущей работе было продемонстрировано, что у эмбрионов мышей, развивающихся *in vitro*, происходит по-

вышение общего содержания внутриклеточных липидов при добавлении жирных кислот в питательную среду (Igonina et al., 2021).

В настоящей работе было показано уменьшение количества внутриклеточных липидов в ходе развития эмбрионов мышей до стадии бластоцисты как *in vivo*, так и *in vitro*. Это предположительно связано с тем, что при переходе от стадии морулы к бластоцисте может происходить переключение метаболизма с углеводного на жировой (Ibayashi et al., 2021). При этом происходит образование агрегатов из липидных гранул, а энергетический субстрат начинает активно утилизироваться благодаря повышенному липолизу (в частности, перед имплантацией) (Watanabe et al., 2010; Romek et al., 2011; Bradley et al., 2016). Ранее были выполнены исследования на эмбрионах мыши, культивировавшихся *in vitro* на среде KSOM или KSOM-AA (обогащенной аминокислотами). У таких эмбрионов со стадии 2-х бластомеров до морулы или бластоцисты происходит уменьшение числа липидных гранул за счет их агрегации, но каким образом изменяется общее количество внутриклеточных липидов до сих пор не исследовано (Watanabe et al., 2010; Bradley et al., 2016). Подобное снижение количества внутриклеточных липидов было показано в экспериментах на эмбрионах свиньи при их культивировании *in vitro* до стадии бластоцисты (Romek et al., 2011). Уменьшение объема липидных гранул, как правило, происходит за счет липолиза триацилглицеридов липазами, расположенными на поверхности их мембран. При этом жирные кислоты высвобождаются для митохондриального метаболизма (Lawson

et al., 2022). Более того, в ходе преимплантационного развития может происходить селективная аутофагия липидных гранул липосомами (липофагия), что также снижает со временем количество внутриклеточных липидов (Tsukamoto et al., 2008). Таким образом, липидный метаболизм в ходе преимплантационного развития мыши зависит от тех условий, в которых оно происходит, а именно — *in vivo* или *in vitro*. Между тем, независимо от условий, в которых происходит развитие эмбрионов мышей, на стадии формирования blastocysts количество внутриклеточных липидов существенно снижается по сравнению с предыдущими стадиями.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность инженерам ЦКП “Генетических ресурсов лабораторных животных” (<http://spf.bionet.nsc.ru>) и ЦКП “Микроскопического анализа биологических объектов” ИЦиГ СО РАН (<http://www.bionet.nsc.ru/microscopy>).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке РФФ № 21-74-10108. Содержание животных осуществляли благодаря бюджетному проекту № FWNR-2022-0023 с использованием оборудования ЦКП “Центр генетических ресурсов лабораторных животных” ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023). Микроскопические работы выполнены в ЦКП “Микроскопического анализа биологических объектов” ИЦиГ СО РАН.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При выполнении данного исследования все манипуляции, проводившиеся с экспериментальными животными, методы обезболивания, эвтаназии и ухода за животными до и после экспериментальных вмешательств соответствовали международным нормам по биоэтике.

#### ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

Авторы С.Я. Амстиславский, Т.А. Рахманова, Т.Н. Игонина, Е.Ю. Брусенцев разработали дизайн эксперимента. Авторы Т.А. Рахманова, И.Н. Рожкова и Т.Н. Игонина получали преимплантационные эмбрионы мышей и проводили их культивирование *in vitro*. Автор Т.А. Рахманова проводила окрашивание эмбрионов нильским красным с последующей конфокаль-

ной микроскопией для оценки общего количества липидов. Авторы С.Я. Амстиславский, Е.Ю. Брусенцев, Т.А. Рахманова и Т.Н. Игонина участвовали в обработке данных. Авторы С.Я. Амстиславский, Т.А. Рахманова и Е.Ю. Брусенцев участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Брусенцев Е.Ю., Чуйко Э.А., Окотруб К.А., Игонина Т.Н., Рожкова И.Н., Рагаева Д.С., Раннева С.В., Напримеров В.А., Амстиславский С.Я. Влияние диеты с повышенным содержанием жира на липидный профиль ооцитов мышей // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2020. Т. 24. № 5. С. 533–538.
- Abe H., Yamashita S., Itoh T., Satoh T., Hoshi H. Ultrastructure of bovine embryos developed from *in vitro*-matured and -fertilized oocytes: comparative morphological evaluation of embryos cultured either in serum-free medium or in serum-supplemented medium // Mol. Reprod. Dev. 1999. V. 53. P. 325–335.
- Aizawa R., Ibayashi M., Tatsumi T., Yamamoto A., Kokubo T., Miyasaka N., Sato K., Ikeda S., Minami N., Tsukamoto S. Synthesis and maintenance of lipid droplets are essential for mouse preimplantation embryonic development // Development. 2019. V. 146. dev181925.
- Arena R., Bisogno S., Gasior L. et al. Lipid droplets in mammalian eggs are utilized during embryonic diapause // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2021. V. 118. e2018362118.
- Bradley J., Swann K. Mitochondria and lipid metabolism in mammalian oocytes and early embryos // Int. J. Dev. Biol. 2019. V. 63. P. 93–103.
- Bradley J., Pope I., Masia F., Sanusi R., Langbein W., Swann K., Borri P. Quantitative imaging of lipids in live mouse oocytes and early embryos using CARS microscopy // Development. 2016. V. 143. P. 2238–2247.
- Genicot G., Leroy J.L., Soom A.V., Donnay I. The use of a fluorescent dye, Nile red, to evaluate the lipid content of single mammalian oocytes // Theriogenology. 2005. V. 63. P. 1181–1194.
- Ibayashi M., Aizawa R., Mitsui J., Tsukamoto S. Homeostatic regulation of lipid droplet content in mammalian oocytes and embryos // Reproduction. 2021. V. 162. R99–R109.
- Igonina T.N., Okotrub K.A., Brusentsev E.Y., Chuyko E.A., Ragaeva D.S., Ranneva S.V., Amstislavsky S.Y. Alteration of the lipid phase transition during mouse embryos freezing after *in vitro* culture with linoleic acid // Cryobiology. 2021. V. 99. P. 55–63.
- Lawitts J.A., Biggers J.D. Culture of preimplantation embryos // Methods. Enzymol. 1993. V. 225. P. 153–164.
- Lawson E.F., Grupen C.G., Baker M.A., Aitken R.J., Swegen A., Pollard C.L., Gibb Z. Conception and early pregnancy in the mare: lipidomics the unexplored frontier // Reprod. Fertil. 2022. V. 3. R1–R18.
- Romek M., Gajda B., Krzysztofowicz E., Kepczynski M., Smorag Z. New technique to quantify the lipid composition of lipid droplets in porcine oocytes and pre-implan-

- tation embryos using Nile Red fluorescent probe // *Theriogenology*. 2011. V. 75. P. 42–54.
- Tatsumi T., Takayama K., Ishii S., Yamamoto A., Hara T., Minami N., Miyasaka N., Kubota T., Matsuura A., Itakura E., Tsukamoto S. Forced lipophagy reveals that lipid droplets are required for early embryonic development in mouse // *Development*. 2018. V. 145. dev161893.
- Tsukamoto S., Kuma A., Murakami M., Kishi C., Yamamoto A., Mizushima N. Autophagy is essential for preimplantation development of mouse embryos // *Science*. 2008. V. 321. P. 117–120.
- Watanabe T., Thayil A., Jesacher A., Grieve K., Debarre D., Wilson T., Booth M., Srinivas S. Characterisation of the dynamic behaviour of lipid droplets in the early mouse embryo using adaptive harmonic generation microscopy // *BMC Cell Biol*. 2010. V. 11. P. 38.
- Welte M.A. Expanding roles for lipid droplets // *Curr. Biol*. 2015. V. 25. R470–R481.

## Intracellular Lipids during *in vivo* and *in vitro* Preimplantation Embryo Development in Mice

T. N. Igonina<sup>1</sup>, T. A. Rakhmanova<sup>1, 2</sup>, I. N. Rozhkova<sup>1</sup>,  
E. Yu. Brusentsev<sup>1</sup>, and S. Ya. Amstislavsky<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, prosp. Lavrentyeva, 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

<sup>2</sup>*Novosibirsk State University, Pirogova, 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

\*e-mail: amstis@yandex.ru

Investigation the role of lipids in mammalian preimplantation development is a hot edge of the modern embryology. The aim of this study was to evaluate the amount of intracellular lipids in preimplantation mouse embryos during *in vivo* and *in vitro* development using confocal laser scanning microscopy. The development of preimplantation embryos was accompanied by a decrease in total lipid content, which was observed *in vivo* at the blastocyst stage and at morula stage *in vitro*. Besides, during *in vitro* embryo development total lipid content was lower as compared to *in vivo* development. Thus, lipid metabolism during the preimplantation period depends on the conditions in which development occurs (*in vivo* or *in vitro*); at blastocyst stage, the amount of intracellular lipids in preimplantation mouse embryos significantly decreases.

**Keywords:** mice, preimplantation embryo, intracellular lipids, Nile Red, confocal laser scanning microscopy, *in vitro* culture