

Cell seeding density for multi-well plates in HCS experiment

Plates	Surface area per well (cm ²)	Seeding density (x10 ⁵)	Confluency (x10 ⁵)*	Trypsin-EDTA (μL)	DMEM (mL)
6-well	9.4	2.0	10.0	800	2.0-3.0
12-well	3.8	1.0	5.0	500	1.0-2.0
24-well	1.9	0.5	2.5	250	0.5-1.0
48-well	1.0	0.25	1.0	125	0.2-0.4
96-well	0.3	0.1	0.4	70	0.1-0.2
384-well	0.06	0.01	0.04	20	0.025-0.05

*Confluency is cell type, culture condition and time dependent. This table was created based on the previous experiments in cell culture with HeLa cells.

Operetta CLS (PerkinElmer)에서 최적화된 HCS imaging을 위한 end-point optimal cell density는 96-well plate에서 10,000-20,000 cells/well (HeLa cell 기준)을 보이며, 384-well plate에서는 약 2,000-4,000 cells/well 수준의 confluency가 적합한 것으로 보여진다. Over growth (too high cell density)된 경우, HCS장비의 autofocusing기능에 failure가 발생할 확률이 높아지며, live imaging과정 중 blur한 images의 중첩현상으로 인해 분석(cell counting, molecular analysis, shape factor analysis등)에 어려움을 겪을 수 있다. Cell density가 너무 낮을 경우(96-well plate에서 5,000 cells/well이하), microscopic fields에 empty area의 증가로 인한 focusing failure가 간헐적으로 발생할 수 있다. 또한 extremely low cell number/well의 경우, quantitative data analysis에서 통계상 오류를 초래할 수 있으므로 HCS실험에 있어서 multi-well plate cell seeding density의 중요성을 반드시 유념하여야 한다.