

Supplemental Table 1

List of compounds and quantification ions detected in the reference mixtures and in the samples of interest (yeast: YJM789; human cell line: A549). Detected quantification ions were compared to Wegner et al. 2014 (Anal Chem, 2014, 86, 2221-2228) to check the validity of the chosen fragments where possible. For some unidentified compounds putative elemental compositions have been determined based on the mass shift induced by ^{13}C - ^{15}N labeling and potential metabolites are shown.

Metabolite			Sum formula underivatized	#C+#N total	# Backbone C+N from Wegner2014	#C+#N fragment	Ion pair detected in ref	Avg. RI	Platform A		Platform B					
	m/z light ion	m/z heavy ion							Found in YJM789	Found in A549	Ion pair detected in ref	Avg. RI	Avg. RT (Min)	Found in YJM789	Found in A549	
Lactic_acid_2TMS	219	222	C3H6O3	3		3	Y	1091	6.71	Y						
Alanine_2TMS	190	193	C3H7NO2	4		3	Y	1123	7.60	Y	Y		1123	8.75	Y	Y
	218	222			3-4	4	Y					Y				
Valine_1TMS	174	180	C5H11NO2	6		6	Y	1156	8.48	Y						
Glycine_2TMS	204	207	C2H5NO2	3		3	Y	1159	8.57	Y	Y		1158	9.67	Y	Y
Carbonic_acid_1MeOX_2TMS	235	238	H2CO3	1		3						Y	1205	10.93	Y	Y
Leucine_1TMS	188	195	C6H13NO2	7		7						Y	1225	11.44	Y	Y

Supplements

Valine_2TMS			C5H11NO2	6				1232	10.57	Y	Y		1230	11.58	Y	Y
	218	221			3	3	Y					Y				
	246	252			5-6	6	Y					Y				
Unidentified_1243			NA										1243	11.92	Y	Y
	<i>C3H5NO2 2TMS</i>	188	191			3						Y				
	<i>aminoacrylic acid 2TMS</i>	216	220			4						Y				
Unidentified_1262			NA					1261	11.36	Y	Y					
	<i>C5H8O3 1TMS</i>	173	178			5	Y									
	<i>oxopentanoic acid 1TMS</i>															
Glycerol_3TMS			C3H8O3	3				1269	11.59	Y	Y		1266	12.54	Y	Y
	218	221			3	3	Y					Y				
	293	296			3	3						Y				
Proline_1TMS			C5H9NO2	6									1272	12.68	Y	Y
	172	178				6						Y				
Leucine_2TMS			C6H13NO2	7				1287	12.06	Y	Y		1284	13.01	Y	Y
	158	164			6	6	Y					Y				
	188	195				7	Y									
	218	221			3	3						Y				
	232	238			6	6	Y					Y				
	260	267			7	7						Y				
Isoleucine_2TMS			C6H13NO2	7				1308	12.65	Y	Y		1306	13.58	Y	Y
	158	164			6	6	Y					Y				
	203	206				3						Y				
	218	221			3	3	Y									
	232	238			6	6						Y				
Glycine_3TMS			C2H5NO2	3				1316	12.88	Y	Y		1315	13.82	Y	Y
	276	279			3	3	Y					Y				
Unidentified_1331			NA					1330	13.25							
	217	222				5	Y									
Unidentified_1343			NA					1341	13.54	Y	Y		1340	14.49	Y	Y
	<i>C5H8O3 1TMS 1MeOX</i>	170	175			5	Y									
	<i>oxopentanoic acid 1TMS 1MeOX</i>	186	191			5						Y				
	202	207				5	Y					Y				
	217	222				5	Y					Y				
Threonine_2TMS			C4H9NO3	5				1345	13.65	Y	Y					
	219	222				3	Y									
	248	253				5	Y									

Supplements

Alanine_(3TMS)			C3H7NO2	4				1360	14.08	Y	Y		1359	15.00	Y	Y
	188	191				3	Y					Y				
	262	265				3	Y					Y				
	290	294				4	Y					Y				
Serine_3TMS			C3H7NO3	4									1367	15.20	Y	Y
	204	207			3	3						Y				
	218	221			3	3						Y				
	278	281			3	3						Y				
	306	310			4	4						Y				
Succinic_acid_2TMS			C4H6O4	4				1380	14.61	Y	Y		1378	15.50	Y	Y
	247	251			4	4	Y					Y				
	262	266				4	Y									
Unidentified_1388			NA					1386	14.78							
	256	260				4	Y									
Fumaric_acid_2TMS			C4H4O4	4				1389	14.86	Y	Y		1387	15.74	Y	Y
	159	163				4	Y					Y				
	245	249				4	Y					Y				
Uracil_2TMS			C4H4N2O2	6				1423	15.67	Y	Y		1422	16.56	Y	Y
	241	247			6	6	Y					Y				
Homoserine_(3TMS)			C4H9NO3	5									1451	17.17	Y	
	218	222				4						Y				
Thymine_2TMS			C5H6N2O2	7				1481	16.97	Y	Y		1481	17.84	Y	
	255	262				7						Y				
	270	277				7	Y					Y				
Unidentified_1488			NA					1487	17.09							
	247	251				4	Y									
	259	264				5	Y									
	321	325				4	Y									
	349	354				5	Y									
Aspartic_acid_2TMS			C4H7NO4	5				1503	17.46	Y	Y		1505	18.35	Y	Y
	160	164			4	4	Y					Y				
	202	205				3	Y					Y				
	220	223			3	3	Y					Y				
	234	238			4	4	Y					Y				
	245	249				4	Y					Y				
	262	267			5	5	Y					Y				
Malic_acid_3TMS			C4H6O5	4				1519	17.80	Y	Y		1516	18.60	Y	Y

Supplements

	233	236			3	3	Y					Y				
	245	249			4	4						Y				
	335	339			4	4	Y					Y				
	350	354				4	Y									
Unidentified_1541			NA					1546	18.40	Y						
	232	236				4	Y									
	334	339				5	Y									
Aspartic_acid_3TMS			C4H7NO4	5				1550	18.48	Y	Y		1547	19.28	Y	Y
	218	221			3	3	Y					Y				
	232	236			3-4	4	Y					Y				
	306	310			4	4						Y				
	334	339				5						Y				
	349	354			5	5						Y				
Unidentified_1565			NA					1565	18.82	Y						
	245	249				4	Y									
Glutamine [-H2O] (2TMS)_MP			C5H10N2O3	7				1568	18.88	Y	Y					
	155	161				6	Y									
Methionine_2TMS			C5H11NO2S	6									1577	19.92	Y	Y
	176	181				5						Y				
	188	193				5						Y				
	250	254				4						Y				
Cysteine_(3TMS)			C3H7NO2S	4									1586	20.11	Y	
	220	223				3						Y				
Unidentified_1600			NA					1599	19.57							
	252	255				3	Y									
Ornithine_(3TMS)			C5H12N2O2	7									1610	20.61	Y	
	348	355				7						Y				
Glutamic_acid_2TMS			C5H9NO4	6				1619	19.96	Y	Y		1619	20.78	Y	Y
	158	163				5	Y					Y				
	174	179				5	Y					Y				
	186	192				6	Y					Y				
	201	207				6	Y									
	248	253				5	Y					Y				
	276	282				6	Y					Y				
Xylose_1MEOX_4TMS_MP			C5H10O5	5									1633	21.04		
	217	220				3						Y				
Pyroglutamic_acid_2TMS			C5H7NO3	6									1640	21.18	Y	Y

Supplements

	156	161			5					Y				
Pyroglutamic_acid_2TMS			C5H7NO3	6		1643	20.42	Y	Y		1644	21.25	Y	Y
	156	161			5	Y				Y				
	258	264			6					Y				
Glutamic_acid_3TMS			C5H9NO4	6		1651	20.57	Y	Y		1648	21.32	Y	Y
	156	161			5	Y								
	246	251		5	5	Y				Y				
	348	354		6	6					Y				
	363	369			6					Y				
Hexanedioic_acid,_hydroxy-_(3TMS)			C6H10O5	6		1663	20.81							
	363	369			6	Y								
Phenylalanine_2TMS			C9H11NO2	10		1693	21.37	Y	Y		1693	22.19	Y	Y
	218	221		3	3	Y				Y				
Unidentified_1706			NA			1698	21.49	Y	Y					
<i>C3H9N3 2TMS (dimethylguanidine); C5H13N 2TMS (isopentylamine)</i>	186	191			5	Y								
Unidentified_1715			NA								1715	22.61		
	229	233			4					Y				
Unidentified_1735			NA								1735	22.98	Y	Y
<i>C4H7NO4 4TMS (aspartic acid)</i>	231	236			5					Y				
Ornithine_4TMS			C5H12N2O2	7		1779	23.04	Y	Y		1778	23.81	Y	Y
	186	192			6	Y								
	244	250			6	Y								
	258	264			6	Y								
	330	336			6					Y				
	348	355			7	Y				Y				
	420	427			7					Y				
Glycerol-3-phosphate_(4TMS)			C3H9O6P	3		1790	23.24	Y	Y					
	445	448		3	3	Y								
Unidentified_1789			NA			1791	23.27							
	295	305			10	Y								
Mannose_1MEOX_5TMS_MP			C6H12O6	6		1806	23.54	Y			1802	24.25		
	217	220			3	Y								
	319	323			4	Y				Y				
Glucose_1MEOX_5TMS_MP			C6H12O6	6		1820	23.78		Y		1824	24.64	Y	Y
	217	220			3	Y				Y				
	307	310			3	Y								

Supplements

	319	323			4	Y					Y				
	466	470			4						Y				
Galactose_1MEOX_5TMS_MP			C6H12O6	6			1828	23.92	Y	Y					
	217	220			3	Y									
	291	294			3	Y									
	319	323			4	Y									
Citric_acid_4TMS			C6H8O7	6			1830	23.96		Y		1829	24.71	Y	Y
	231	234			3	Y									
	273	278			5	5					Y				
	305	308			3	Y									
	347	352			4-5	5	Y				Y				
	363	368			5	5	Y								
	375	381			6	6	Y				Y				
	465	471			6	6	Y								
Galactose,_2-amino-2-deoxy-,_D-_(5TMS)			C6H13NO5	7			1848	24.27							
	203	206			3	Y									
	434	441			7	Y									
Arginine_[-NH3]_(3TMS)			C6H11N3O2	7			1859	24.45		Y		1858	25.22	Y	Y
	157	163			6	Y					Y				
	348	351			3						Y				
Glyceric_acid-3-phosphate_(4TMS)			C3H7O7P	3			1862	24.50							
	348	351			3	Y									
Mannose_1MEOX_5TMS_MP			C6H12O6	6								1865	25.33		Y
	159	162			3						Y				
	319	323			4						Y				
Unidentified_1870			NA				1869	24.62							
	537	544			7	Y									
Lysine_(3TMS)			C6H14N2O2	8			1878	24.78	Y	Y					
	362	370			8	Y									
Lysine_4TMS			C6H14N2O2	8			1883	24.86		Y		1882	25.62	Y	Y
	230	234			4	Y					Y				
	317	324			7	7					Y				
	419	427			8						Y				
	434	442			8	8					Y				
	458	462			4						Y				
	481	488			7	Y									
Unidentified_1914			NA									1913	26.16		

Supplements

	158	164			6				Y				
Unidentified_1921			NA			1919	25.49						
	158	161			3	Y							
Unidentified_1935			NA							1935	26.52	Y	Y
	158	164			6				Y				
	204	207			3				Y				
Unidentified_1959			NA			1957	26.15						
	284	290			6	Y							
Unidentified_1962			NA							1962	26.98	Y	
	204	207			3				Y				
	259	262			3				Y				
Unidentified_1967			NA							1966	27.06		
	246	252			6				Y				
Myo-inositol_6TMS			C6H12O6	6		1973	26.42	Y	Y	1970	27.13	Y	Y
	217	220			3	Y							
	305	308			3	Y			Y				
	318	322			4	Y			Y				
	419	424			5	Y							
	507	513			6	Y							
Tyrosine_3TMS			C9H11NO3	10						1980	27.29	Y	Y
	218	221			3	3			Y				
Tyrosine_2TMS			C9H11NO3	10		2002	26.92	Y	Y	2004	27.70	Y	Y
	179	186			7	Y			Y				
Adenine_2TMS			C5H5N5	10						2030	28.11	Y	Y
	264	274			10	10			Y				
	356	365			9				Y				
Unidentified_2052			NA							2052	28.45	Y	
	154	160			6				Y				
	182	190			8				Y				
	218	221			3				Y				
Unidentified_2084			NA			2083	28.20	Y	Y	2082	28.92	Y	Y
<i>C5H11O8P 3TMS</i>	169	174			5				Y				
<i>pentose phosphate</i>	243	248			5	Y			Y				
	258	263			5	Y			Y				
Ribose-5-phosphate_5TMS_1MeOX_MP			C5H11O8P	5		2101	28.48	Y	Y	2099	29.18	Y	
	217	220			3	Y			Y				
	517	520			3				Y				

Supplements

Unidentified_2282			NA									2281	31.93	Y		
	218	222				4				Y						
Unidentified_2189			NA					2188	29.84	Y						
	445	448				3	Y									
Unidentified_2219			NA					2218	30.29							
	448	451				3	Y									
Unidentified_2247			NA					2247	30.71	Y	Y					
<i>C5H14NO6P 5TMS sn-glycero-3-Phosphoethanolamine ; O-Phospho-4-hydroxy-L-threonine</i>	461	464				3	Y									
Glucose-6-phosphate_(1MEOX)_(6TMS)_MP			C6H13O9P	6				2284	31.25							
	458	462				4	Y									
Guanine_3TMS			C5H5N5O	10								2293	32.11	Y	Y	
	352	362				10					Y					
Unidentified_2303			NA					2302	31.51							
	230	234				4	Y									
Unidentified_2328			NA					2328	31.88	Y	Y		2326	32.58	Y	Y
<i>C6H13O9P 7TMS hexose phosphate</i>	230	234				4					Y					
	246	250				4					Y					
	318	322				4	Y				Y					
Unidentified_2394			NA					2394	32.84							
	470	474				4	Y									
Unidentified_2463			NA					2462	33.76	Y			2457	34.41	Y	
	217	220				3	Y				Y					
	319	323				4	Y									
	361	367				6	Y				Y					
	435	441				6	Y									
	451	457				6	Y									
Unidentified_2489			NA					2488	34.11	Y						
	271	277				6	Y									
	331	336				5	Y									
	361	367				6	Y									
Unidentified_2510			NA					2514	34.47		Y					
	217	220				3	Y									
	271	277				6	Y									
	319	323				4	Y									
	361	367				6	Y									

Supplements

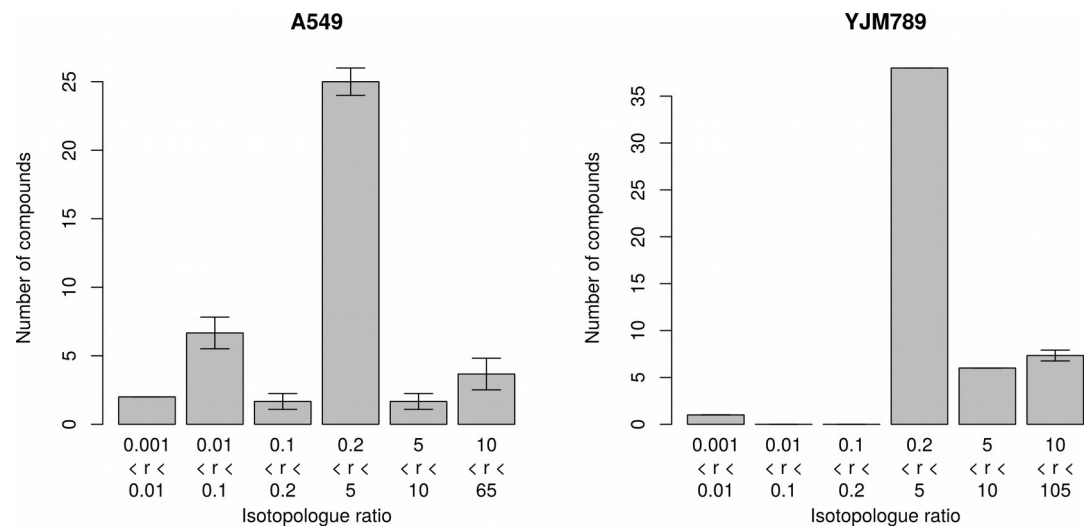
Unidentified_2519			NA									2518	35.23	Y	
	218	222				4				Y					
Unidentified_2550			NA					2550	34.95						
	241	248				7	Y								
Unidentified_2567			NA					2565	35.16	Y					
	361	367				6	Y								
Unidentified_2578			NA					2575	35.29						
	169	174				5	Y								
	217	220				3	Y								
Unidentified_2588			NA					2585	35.43	Y	Y				
	217	220				3	Y								
	305	308				3	Y								
	319	323				4	Y								
	331	336				5	Y								
	361	367				6	Y								
Unidentified_2635			NA					2638	36.10	Y					
	217	220				3	Y								
	319	323				4	Y								
	361	367				6	Y								
Unidentified_2661			NA					2659	36.36	Y					
	157	161				4	Y								
	433	439				6	Y								
Unidentified_2702			NA					2699	36.85	Y	Y	2696	37.52	Y	Y
	217	220				3	Y				Y				
	361	367				6	Y				Y				
	433	439				6	Y				Y				
Maltose_(1MEOX)_(8TMS)_MP			C12H22O11					2716	37.06	Y		2712	37.71	Y	
	217	220				3	Y								
	480	486				6					Y				
Unidentified_2735			NA					2735	37.30						
	167	172				5	Y								
Maltose_(1MEOX)_(8TMS)_BP			C12H22O11					2778	37.83						
	289	295				6	Y								
	305	308				3	Y								
Unidentified_2978			NA									2977	40.87	Y	
	169	174				5				Y					
Unidentified_3049			NA									3049	41.68		

Supplements

	169	174			5					Y				
Unidentified_3070			NA				3071	41.21	Y					
	217	220			3	Y								
Unidentified_3194			NA									3194	43.29	Y Y
	169	174			5					Y				

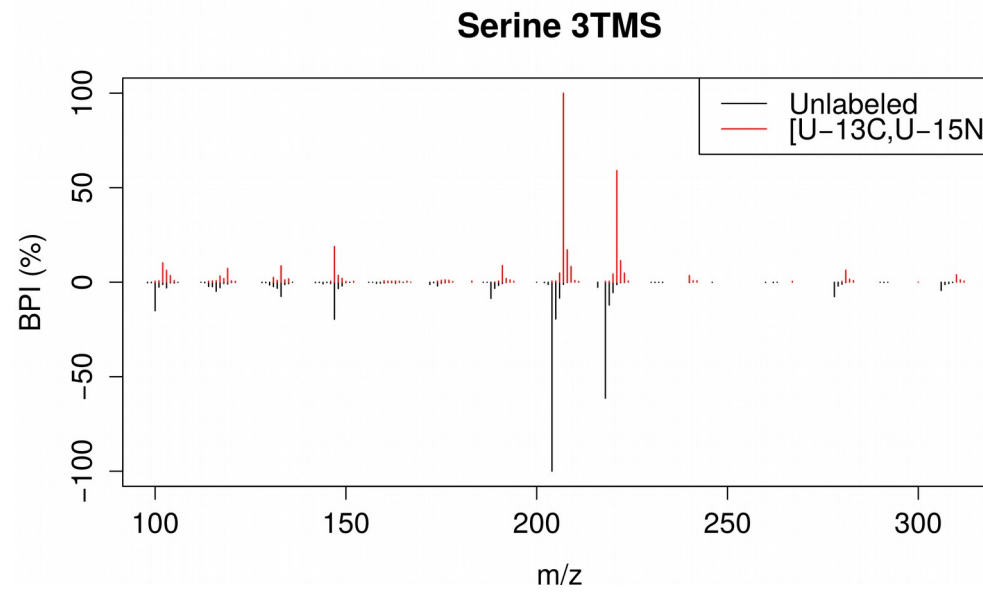
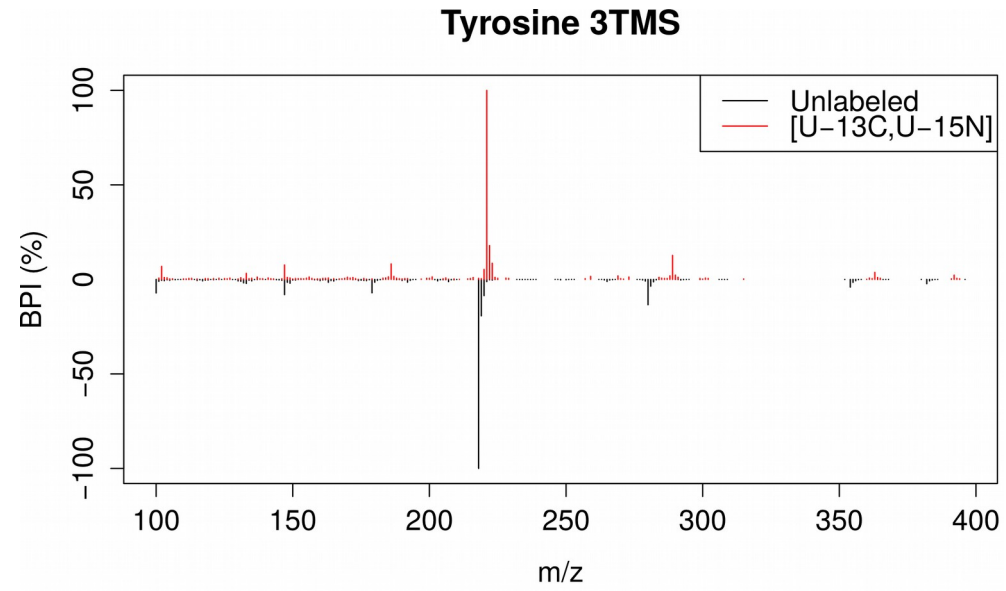
Supplemental Figure S1

Distribution of the isotopologue ratios for the analyzed samples. Ideally, the intensity ratio of analyte and internal standard should be close to 1.



Supplemental Figure S2

Exemplary mass spectra of two compounds of the fully ^{13}C and ^{15}N enriched reference extract demonstrating its high isotopic purity.



Supplemental Figure S3

TIC overlay of measurements of the pure A549 polar metabolite extract and the one with spiked-in reference extract. The chromatographic complexity is not significantly increased by the addition of the reference extract.

