

## Supplemental Data

Table S1 Composition of the chemical defined medium (CDM) for *S. pneumoniae*

Compound	CDM [mg/l]
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5.04
Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·9H <sub>2</sub> O	1.06
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	200
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	500
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	700
MnSO <sub>4</sub>	5.58
L-Alanine	100
L-Arginine	100
L-Aspartic acid	100
L-Asparagine	100
L-Cysteine	500
L-Cystine	50
L-Glutamic acid	100
L-Glutamine	200
Glycine	100
L-Histidine	100
L-Isoleucine	100
L-Leucine	100
L-Lysine	100
L-Methionine	100
L-Phenylalanine	100
L-Proline	100
Hydroxy-L-Proline	100
L-Serine	100
L-Threonine	200
L-Tryptophan	100
L-Tyrosine	100
L-Valine	100
p-Aminobenzoic acid	0.2
Biotin	0.2
Folic acid	0.8
Niacinamide	1
β-Nicotinamide adenine dinucleotide	2.5
Pantothenate calcium salt	2
Pyridoxal	1
Pyridoxamine dihydrochloride	1
Riboflavin	1.6
Thiamine hydrochloride	1
Vitamine B <sub>12</sub>	0.1
Glucose	10,000
Adenine	20
Guanine	20
Uracil	20
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	20
NaC <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	2,720
NaHCO <sub>3</sub>	2,500
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	3,200
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	9,220
C <sub>5</sub> H <sub>14</sub> NOCl (Choline)	20

Table S2. Primers used in this study

Oligonucleotide	Sequence (5'-3')	
<b>Mutagenesis of <i>codY</i></b>		
PCR of <i>codY</i> and 5'+3'		
codYfwd	CAAGACCCAGATAGCCTTCC	
codYrev	CAGCTGGTTTAAACAATCTCG	
PCR with plasmid pG619		
codY_revinv	TAGCGTTGTAAGGGATCCCATCCTGCAACTG	
codY_fwdinv	GAAGTGAAGAAAA <u>AAGCTT</u> ACTAATGACAAAG	
PCR of <i>ermB</i> gene		
Eryfor-Clal	<u>ATCGAT</u> ACGGTTCGTGTTCGTGCTG	
Eryrev-Clal	<u>ATCGAT</u> CGTAGGCGCTAGGGACCTC	
<b>Mutagenesis of <i>zwf</i></b>		
PCR of <i>zwf</i> and 5'+3'		
zwffwd	GTTGATGACTAAGGAAGAAG	
zwfrev	GATACCTTCCGTGCGGGTGC	
<b>RT-PCR</b>		
<i>zwf</i>	ZwfRTf ZwfRTr	TGCGAGTGGAGACCTGGCTA AATCATTGACATCATGGCTT
<i>ilvB</i>	IlvBRTf IlvBRTTr	GGTCGGACCTAGTTTTGGAA CCTTCAGCTTCATGCAAACA
<i>ilvE</i>	IlvERTf IlvERTTr	ATGGACAATGGGATCAAGGA GACGGTCACATGTACGTTGC
<i>glyA</i>	GlyARTf GlyARTTr	TGGAATGCTATTGCCAAAGA TTCCTGAATGTGGTTGGACA
<i>ppc</i>	PpcRTf PpcRTr	AAACGCGCTAAGTTGTACCG TCCTGCGTTGATAATTCCTTCA
<i>aroC</i>	AroCRTf AroCRTTr	CAGCTGGACTTCCATTGACA GCCATTCTGGTGGTCCCTTA
<i>aspC</i>	AspCRTf AspCRTTr	GCACTGAAGGCTGAGGGTAG ATAGCCGTAAAAGCGCTCAA
<i>codY</i>	CodYRTf CodYRTr	CAGAGGAGCAGTTGCAGGAT GCCCCTTGAACGTAGTCATC
<i>pavA</i>	PavARTf PavARTTr	ATGGTCGCATCCAGAAAATC ACGGTCATTTTCCACTTGCT
<i>eno</i>	EnoRTf EnoRTr	CTCGTTACGGTGGTCTTGCT GTAGTCAGCAGCAGCACGAG

Restriction sites *Bam*HI, *Hind*III, and *Cl*aI, respectively, are underlined

Table S3.  $^{13}\text{C}$ -excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39 $\Delta$ *cps* cultured with 55.5 mM [U- $^{13}\text{C}_6$ ]glucose. M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of  $^{13}\text{C}$ -atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 $\Delta$ <i>cps</i>		
		55.5 mM [U- $^{13}\text{C}_6$ ]Glc		
		CDM 1	CDM 2	CDM 3
Ala	M+0	6.00 % $\pm$ 0.04 %	7.27 % $\pm$ 0.09 %	16.34 % $\pm$ 0.04 %
	M+1	0.40 % $\pm$ 0.02 %	0.75 % $\pm$ 0.02 %	0.95 % $\pm$ 0.01 %
	M+2	2.98 % $\pm$ 0.04 %	1.78 % $\pm$ 0.05 %	1.82 % $\pm$ 0.01 %
	M+3	90.62 % $\pm$ 0.07 %	90.20 % $\pm$ 0.12 %	80.89 % $\pm$ 0.03 %
Asp	M+0	49.14 % $\pm$ 0.08 %	57.25 % $\pm$ 0.05 %	69.36 % $\pm$ 0.05 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.06 % $\pm$ 0.08 %	0.11 % $\pm$ 0.09 %
	M+2	1.19 % $\pm$ 0.07 %	0.68 % $\pm$ 0.02 %	0.60 % $\pm$ 0.12 %
	M+3	48.23 % $\pm$ 0.35 %	40.52 % $\pm$ 0.08 %	29.60 % $\pm$ 0.05 %
	M+4	1.43 % $\pm$ 0.25 %	1.48 % $\pm$ 0.11 %	0.33 % $\pm$ 0.07 %
Glu	M+0	99.52 % $\pm$ 0.17 %	99.24 % $\pm$ 0.09 %	99.90 % $\pm$ 0.02 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.58 % $\pm$ 0.09 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.43 % $\pm$ 0.17 %	0.17 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.07 % $\pm$ 0.02 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+5	0.05 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
Gly	M+0	98.44 % $\pm$ 0.07 %	99.17 % $\pm$ 0.11 %	94.01 % $\pm$ 0.14 %
	M+1	0.43 % $\pm$ 0.05 %	0.03 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	1.13 % $\pm$ 0.11 %	0.80 % $\pm$ 0.09 %	5.99 % $\pm$ 0.14 %
Ile	M+0	99.96 % $\pm$ 0.05 %	99.62 % $\pm$ 0.05 %	99.94 % $\pm$ 0.02 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.15 % $\pm$ 0.04 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.04 % $\pm$ 0.05 %	0.20 % $\pm$ 0.02 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.02 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.02 % $\pm$ 0.00 %
Leu	M+0	99.74 % $\pm$ 0.01 %	99.78 % $\pm$ 0.16 %	99.99 % $\pm$ 0.01 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.22 % $\pm$ 0.16 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.23 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.01 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
Phe	M+0	94.95 % $\pm$ 0.21 %	97.88 % $\pm$ 0.30 %	97.57 % $\pm$ 0.06 %
	M+1	2.04 % $\pm$ 0.31 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %
	M+2	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.10 % $\pm$ 0.10 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.04 %	0.05 % $\pm$ 0.06 %
	M+4	0.10 % $\pm$ 0.04 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %	0.10 % $\pm$ 0.05 %
	M+6	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.11 % $\pm$ 0.08 %
	M+7	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %	0.09 % $\pm$ 0.08 %
	M+8	0.19 % $\pm$ 0.03 %	0.08 % $\pm$ 0.05 %	0.11 % $\pm$ 0.04 %
	M+9	2.71 % $\pm$ 0.10 %	1.99 % $\pm$ 0.28 %	1.84 % $\pm$ 0.06 %

Pro	M+0	99.65 % ± 0.43 %	98.81 % ± 0.08 %	99.08 % ± 0.28 %
	M+1	0.21 % ± 0.27 %	0.23 % ± 0.14 %	0.48 % ± 0.23 %
	M+2	0.00 % ± 0.00 %	0.22 % ± 0.03 %	0.27 % ± 0.41 %
	M+3	0.05 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.09 % ± 0.15 %	0.64 % ± 0.14 %	0.18 % ± 0.07 %
	M+5	0.01 % ± 0.01 %	0.10 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %
Ser	M+0	35.16 % ± 0.12 %	15.31 % ± 0.08 %	26.87 % ± 0.25 %
	M+1	62.78 % ± 0.10 %	81.90 % ± 0.31 %	69.10 % ± 0.35 %
	M+2	1.59 % ± 0.03 %	1.76 % ± 0.32 %	3.28 % ± 0.10 %
	M+3	0.47 % ± 0.10 %	1.03 % ± 0.10 %	0.75 % ± 0.01 %
Thr	M+0	24.14 % ± 0.16 %	41.52 % ± 6.48 %	48.76 % ± 0.35 %
	M+1	1.12 % ± 0.06 %	1.27 % ± 0.96 %	3.47 % ± 0.17 %
	M+2	1.48 % ± 0.09 %	1.32 % ± 0.42 %	1.77 % ± 0.07 %
	M+3	72.71 % ± 0.26 %	54.04 % ± 2.83 %	43.65 % ± 0.22 %
	M+4	0.55 % ± 0.14 %	1.85 % ± 2.36 %	2.35 % ± 0.10 %
Tyr	M+0	98.17 % ± 0.01 %	98.45 % ± 0.14 %	98.72 % ± 0.41 %
	M+1	0.00 % ± 0.00 %	0.14 % ± 0.13 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.05 %	0.05 % ± 0.07 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.12 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.15 % ± 0.25 %
	M+5	0.12 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.00 %	0.14 % ± 0.25 %
	M+6	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.04 %	0.15 % ± 0.27 %
	M+7	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.02 %	0.26 % ± 0.19 %
	M+8	0.16 % ± 0.10 %	0.09 % ± 0.09 %	0.07 % ± 0.08 %
	M+9	1.55 % ± 0.11 %	1.12 % ± 0.09 %	0.45 % ± 0.37 %
Val	M+0	99.85 % ± 0.07 %	98.60 % ± 0.21 %	99.18 % ± 0.07 %
	M+1	0.08 % ± 0.07 %	0.30 % ± 0.11 %	0.46 % ± 0.11 %
	M+2	0.05 % ± 0.04 %	0.20 % ± 0.03 %	0.19 % ± 0.05 %
	M+3	0.02 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.18 % ± 0.13 %	0.16 % ± 0.02 %
	M+5	0.00 % ± 0.00 %	0.71 % ± 0.18 %	0.01 % ± 0.02 %

Table S4.  $^{13}\text{C}$ -excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39 $\Delta\text{cps}$  cultured in the presence of 1.33 mM  $[\text{U-}^{13}\text{C}_2]\text{glycine}$ . M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of  $^{13}\text{C}$ -atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 $\Delta\text{cps}$		
		1.33 mM $[\text{U-}^{13}\text{C}_2]\text{Gly}$		
		CDM 1	CDM 2	CDM 3
Ala	M+0	99.83 % $\pm$ 0.10 %	99.90 % $\pm$ 0.01 %	99.90 % $\pm$ 0.03 %
	M+1	0.12 % $\pm$ 0.11 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.03 % $\pm$ 0.04 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.10 % $\pm$ 0.01 %	0.08 % $\pm$ 0.01 %
Asp	M+0	99.91 % $\pm$ 0.08 %	99.98 % $\pm$ 0.02 %	99.99 % $\pm$ 0.02 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.08 % $\pm$ 0.07 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.01 % $\pm$ 0.02 %	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Glu	M+0	99.95 % $\pm$ 0.06 %	99.79 % $\pm$ 0.17 %	99.79 % $\pm$ 0.14 %
	M+1	0.03 % $\pm$ 0.05 %	0.11 % $\pm$ 0.17 %	0.03 % $\pm$ 0.03 %
	M+2	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.09 % $\pm$ 0.10 %	0.18 % $\pm$ 0.12 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
Gly	M+0	11.78 % $\pm$ 0.12 %	16.22 % $\pm$ 0.11 %	14.41 % $\pm$ 0.03 %
	M+1	1.95 % $\pm$ 0.03 %	2.00 % $\pm$ 0.07 %	2.08 % $\pm$ 0.03 %
	M+2	86.28 % $\pm$ 0.15 %	81.78 % $\pm$ 0.10 %	83.51 % $\pm$ 0.03 %
Ile	M+0	99.98 % $\pm$ 0.02 %	99.84 % $\pm$ 0.02 %	99.83 % $\pm$ 0.01 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.16 % $\pm$ 0.01 %	0.17 % $\pm$ 0.01 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Leu	M+0	99.83 % $\pm$ 0.28 %	99.95 % $\pm$ 0.01 %	99.95 % $\pm$ 0.00 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.16 % $\pm$ 0.28 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.05 % $\pm$ 0.01 %	0.04 % $\pm$ 0.01 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Phe	M+0	99.82 % $\pm$ 0.10 %	99.75 % $\pm$ 0.15 %	99.88 % $\pm$ 0.01 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.09 % $\pm$ 0.13 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %
	M+2	0.16 % $\pm$ 0.11 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.10 % $\pm$ 0.01 %	0.11 % $\pm$ 0.02 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.03 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %
	M+6	0.02 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+7	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+8	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+9	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Pro	M+0	98.94 % $\pm$ 0.15 %	99.29 % $\pm$ 0.27 %	99.06 % $\pm$ 0.39 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.46 % $\pm$ 0.18 %	0.59 % $\pm$ 0.25 %
	M+2	0.63 % $\pm$ 0.11 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %

	M+3	0.00 % ± 0.01 %	0.13 % ± 0.03 %	0.24 % ± 0.12 %
	M+4	0.39 % ± 0.04 %	0.12 % ± 0.10 %	0.09 % ± 0.08 %
	M+5	0.03 % ± 0.04 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %
Ser	M+0	9.27 % ± 0.06 %	15.10 % ± 0.22 %	11.96 % ± 0.05 %
	M+1	1.54 % ± 0.11 %	1.56 % ± 0.11 %	1.47 % ± 0.16 %
	M+2	86.66 % ± 0.06 %	81.96 % ± 0.24 %	85.27 % ± 0.13 %
	M+3	2.52 % ± 0.08 %	1.38 % ± 0.35 %	1.31 % ± 0.08 %
Thr	M+0	93.32 % ± 0.43 %	98.31 % ± 0.58 %	98.42 % ± 0.38 %
	M+1	4.06 % ± 0.79 %	1.22 % ± 0.14 %	1.27 % ± 0.45 %
	M+2	2.34 % ± 0.46 %	0.47 % ± 0.46 %	0.31 % ± 0.14 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.28 % ± 0.17 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Tyr	M+0	99.63 % ± 0.21 %	99.62 % ± 0.28 %	99.36 % ± 0.32 %
	M+1	0.19 % ± 0.33 %	0.00 % ± 0.00 %	0.38 % ± 0.37 %
	M+2	0.00 % ± 0.00 %	0.19 % ± 0.19 %	0.14 % ± 0.08 %
	M+3	0.06 % ± 0.10 %	0.01 % ± 0.02 %	0.01 % ± 0.01 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.01 % ± 0.02 %	0.12 % ± 0.05 %	0.07 % ± 0.04 %
	M+6	0.04 % ± 0.07 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %
	M+7	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+8	0.03 % ± 0.03 %	0.04 % ± 0.07 %	0.02 % ± 0.03 %
	M+9	0.04 % ± 0.07 %	0.02 % ± 0.02 %	0.01 % ± 0.02 %
Val	M+0	99.58 % ± 0.08 %	99.95 % ± 0.06 %	99.97 % ± 0.02 %
	M+1	0.12 % ± 0.13 %	0.03 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.10 % ± 0.05 %	0.01 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %
	M+4	0.18 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.01 %
	M+5	0.01 % ± 0.01 %	0.01 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %

Table S5. <sup>13</sup>C-excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39Δ*cps* cultured with 27.8 mM [1,2-<sup>13</sup>C<sub>2</sub>]glucose. M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of <sup>13</sup>C-atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39Δ <i>cps</i>			D39Δ <i>cps</i> Δ <i>zwf</i>
		27.8 mM [1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]Glc			27.8 mM [1,2- <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]Glc
		CDM 1	CDM 2	CDM 3	CDM 1
Ala	M+0	59.99 % ± 1.03 %	59.99 % ± 0.09 %	60.91 % ± 0.05 %	60.89 % ± 0.07 %
	M+1	0.61 % ± 0.08 %	0.91 % ± 0.04 %	1.06 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	31.69 % ± 0.51 %	38.82 % ± 0.06 %	37.80 % ± 0.04 %	38.91 % ± 0.07 %
	M+3	7.71 % ± 1.52 %	0.28 % ± 0.02 %	0.23 % ± 0.03 %	0.20 % ± 0.03 %
Asp	M+0	80.51 % ± 0.28 %	78.92 % ± 0.94 %	56.92 % ± 0.04 %	81.92 % ± 0.09 %
	M+1	0.27 % ± 0.33 %	0.49 % ± 0.38 %	1.48 % ± 0.04 %	0.01 % ± 0.01 %
	M+2	15.09 % ± 0.36 %	20.55 % ± 0.59 %	40.74 % ± 0.12 %	17.90 % ± 0.20 %
	M+3	3.96 % ± 0.76 %	0.04 % ± 0.04 %	0.86 % ± 0.06 %	0.17 % ± 0.11 %
	M+4	0.17 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Glu	M+0	99.38 % ± 0.18 %	99.28 % ± 1.22 %	99.94 % ± 0.06 %	99.75 % ± 0.10 %
	M+1	0.47 % ± 0.11 %	0.21 % ± 0.37 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.14 % ± 0.13 %	0.50 % ± 0.87 %	0.04 % ± 0.07 %	0.15 % ± 0.11 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %	0.03 % ± 0.03 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.03 %
	M+5	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.02 %
Gly	M+0	99.43 % ± 0.01 %	99.84 % ± 0.10 %	99.84 % ± 0.08 %	99.25 % ± 0.09 %
	M+1	0.10 % ± 0.04 %	0.13 % ± 0.06 %	0.10 % ± 0.03 %	0.52 % ± 0.08 %
	M+2	0.47 % ± 0.04 %	0.03 % ± 0.03 %	0.06 % ± 0.05 %	0.23 % ± 0.01 %
Ile	M+0	99.42 % ± 0.01 %	99.17 % ± 0.93 %	99.83 % ± 0.01 %	99.78 % ± 0.02 %
	M+1	0.01 % ± 0.02 %	0.32 % ± 0.56 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.22 % ± 0.03 %	0.50 % ± 0.39 %	0.17 % ± 0.01 %	0.21 % ± 0.01 %
	M+3	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.00 %
	M+4	0.01 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.33 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Leu	M+0	99.91 % ± 0.07 %	100.00 % ± 0.01 %	99.94 % ± 0.02 %	99.98 % ± 0.02 %
	M+1	0.06 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.01 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.06 % ± 0.01 %	0.01 % ± 0.02 %
	M+4	0.00 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.02 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.01 %
Phe	M+0	97.83 % ± 0.29 %	94.58 % ± 0.55 %	97.25 % ± 0.08 %	94.90 % ± 0.07 %
	M+1	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.04 %	0.54 % ± 0.09 %
	M+2	1.35 % ± 0.24 %	3.87 % ± 0.29 %	1.75 % ± 0.11 %	3.00 % ± 0.08 %
	M+3	0.05 % ± 0.07 %	0.09 % ± 0.12 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %
	M+4	0.34 % ± 0.05 %	1.32 % ± 0.23 %	0.90 % ± 0.03 %	1.54 % ± 0.05 %
	M+5	0.08 % ± 0.03 %	0.04 % ± 0.02 %	0.06 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+6	0.02 % ± 0.02 %	0.08 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+7	0.02 % ± 0.04 %	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+8	0.05 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+9	0.25 % ± 0.02 %	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Pro	M+0	98.80 % ± 0.27 %	98.70 % ± 0.37 %	99.36 % ± 0.15 %	100.00 % ± 0.00 %

	M+1	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.30 % ± 0.06 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.29 % ± 0.05 %	0.51 % ± 0.14 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.05 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.01 %	0.21 % ± 0.18 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.80 % ± 0.24 %	0.67 % ± 0.20 %	0.13 % ± 0.12 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.06 % ± 0.07 %	0.11 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Ser	M+0	91.30 % ± 1.47 %	96.86 % ± 0.39 %	99.02 % ± 0.42 %	99.76 % ± 0.02 %
	M+1	8.55 % ± 1.46 %	2.73 % ± 0.36 %	0.88 % ± 0.44 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.08 % ± 0.08 %	0.41 % ± 0.24 %	0.03 % ± 0.04 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.07 % ± 0.09 %	0.00 % ± 0.00 %	0.06 % ± 0.06 %	0.24 % ± 0.02 %
Thr	M+0	66.45 % ± 0.63 %	65.67 % ± 0.52 %	61.84 % ± 0.22 %	70.97 % ± 0.17 %
	M+1	4.41 % ± 0.26 %	3.44 % ± 0.77 %	2.07 % ± 0.25 %	1.69 % ± 0.20 %
	M+2	20.40 % ± 0.73 %	28.85 % ± 0.87 %	35.05 % ± 0.16 %	27.27 % ± 0.15 %
	M+3	7.65 % ± 1.19 %	1.02 % ± 0.11 %	1.03 % ± 0.19 %	0.08 % ± 0.10 %
	M+4	1.09 % ± 0.11 %	1.01 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
Tyr	M+0	98.69 % ± 0.48 %	97.75 % ± 1.58 %	98.24 % ± 0.26 %	98.92 % ± 0.12 %
	M+1	0.00 % ± 0.00 %	1.12 % ± 1.94 %	0.31 % ± 0.34 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.63 % ± 0.33 %	0.49 % ± 0.24 %	1.06 % ± 0.15 %	0.56 % ± 0.18 %
	M+3	0.07 % ± 0.01 %	0.17 % ± 0.15 %	0.02 % ± 0.04 %	0.05 % ± 0.05 %
	M+4	0.09 % ± 0.10 %	0.43 % ± 0.02 %	0.17 % ± 0.06 %	0.31 % ± 0.02 %
	M+5	0.02 % ± 0.03 %	0.01 % ± 0.01 %	0.11 % ± 0.09 %	0.12 % ± 0.03 %
	M+6	0.05 % ± 0.09 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.02 %	0.02 % ± 0.03 %
	M+7	0.04 % ± 0.07 %	0.01 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+8	0.18 % ± 0.19 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+9	0.23 % ± 0.03 %	0.02 % ± 0.03 %	0.05 % ± 0.05 %	0.02 % ± 0.03 %
Val	M+0	99.62 % ± 0.15 %	99.63 % ± 0.08 %	99.92 % ± 0.13 %	99.86 % ± 0.14 %
	M+1	0.14 % ± 0.14 %	0.09 % ± 0.06 %	0.05 % ± 0.09 %	0.04 % ± 0.07 %
	M+2	0.15 % ± 0.03 %	0.09 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.04 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.01 %
	M+4	0.06 % ± 0.02 %	0.19 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.02 %	0.03 % ± 0.04 %
	M+5	0.03 % ± 0.03 %	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.01 %	0.03 % ± 0.04 %



Table S6.  $^{13}\text{C}$ -excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{pavA}$  cultivated in CDM with 55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]glucose. M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of  $^{13}\text{C}$ -atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{pavA}$		
		55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]Glc		
		CDM 1	CDM 2	CDM 3
Ala	M+0	16.79 % $\pm$ 0.15 %	18.29 % $\pm$ 0.05 %	17.06 % $\pm$ 0.16 %
	M+1	0.95 % $\pm$ 0.02 %	0.90 % $\pm$ 0.01 %	0.97 % $\pm$ 0.03 %
	M+2	1.74 % $\pm$ 0.01 %	1.80 % $\pm$ 0.01 %	1.84 % $\pm$ 0.02 %
	M+3	80.52 % $\pm$ 0.15 %	79.01 % $\pm$ 0.06 %	80.13 % $\pm$ 0.19 %
Asp	M+0	65.87 % $\pm$ 0.09 %	71.16 % $\pm$ 0.16 %	70.53 % $\pm$ 0.40 %
	M+1	0.06 % $\pm$ 0.06 %	0.08 % $\pm$ 0.07 %	0.21 % $\pm$ 0.19 %
	M+2	0.45 % $\pm$ 0.09 %	0.52 % $\pm$ 0.02 %	0.54 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	33.40 % $\pm$ 0.07 %	27.52 % $\pm$ 0.13 %	28.36 % $\pm$ 0.20 %
	M+4	0.22 % $\pm$ 0.06 %	0.71 % $\pm$ 0.03 %	0.36 % $\pm$ 0.10 %
Glu	M+0	99.56 % $\pm$ 0.22 %	99.80 % $\pm$ 0.16 %	99.56 % $\pm$ 0.18 %
	M+1	0.34 % $\pm$ 0.29 %	0.12 % $\pm$ 0.16 %	0.32 % $\pm$ 0.29 %
	M+2	0.06 % $\pm$ 0.05 %	0.06 % $\pm$ 0.06 %	0.07 % $\pm$ 0.12 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+5	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.02 % $\pm$ 0.00 %
Gly	M+0	99.40 % $\pm$ 0.03 %	98.79 % $\pm$ 0.04 %	94.80 % $\pm$ 0.17 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+2	0.60 % $\pm$ 0.03 %	1.21 % $\pm$ 0.04 %	5.19 % $\pm$ 0.15 %
Ile	M+0	99.89 % $\pm$ 0.05 %	99.95 % $\pm$ 0.03 %	99.81 % $\pm$ 0.21 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.05 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.03 % $\pm$ 0.04 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %
	M+4	0.05 % $\pm$ 0.05 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.02 %
	M+5	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.14 % $\pm$ 0.20 %
Leu	M+0	99.98 % $\pm$ 0.02 %	100.00 % $\pm$ 0.00 %	100.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Phe	M+0	95.34 % $\pm$ 0.24 %	96.99 % $\pm$ 0.11 %	97.47 % $\pm$ 0.22 %
	M+1	0.08 % $\pm$ 0.14 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.05 % $\pm$ 0.08 %
	M+2	0.09 % $\pm$ 0.08 %	0.07 % $\pm$ 0.07 %	0.21 % $\pm$ 0.20 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.08 % $\pm$ 0.13 %
	M+4	0.04 % $\pm$ 0.07 %	0.05 % $\pm$ 0.07 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %
	M+5	0.22 % $\pm$ 0.08 %	0.11 % $\pm$ 0.07 %	0.06 % $\pm$ 0.02 %
	M+6	0.36 % $\pm$ 0.13 %	0.19 % $\pm$ 0.07 %	0.08 % $\pm$ 0.08 %
	M+7	0.15 % $\pm$ 0.07 %	0.20 % $\pm$ 0.07 %	0.18 % $\pm$ 0.16 %
	M+8	0.21 % $\pm$ 0.08 %	0.16 % $\pm$ 0.01 %	0.12 % $\pm$ 0.09 %
M+9	3.49 % $\pm$ 0.15 %	2.20 % $\pm$ 0.05 %	1.73 % $\pm$ 0.02 %	

Pro	M+0	99.00 % ± 0.19 %	98.69 % ± 0.13 %	99.16 % ± 0.18 %
	M+1	0.55 % ± 0.05 %	0.26 % ± 0.10 %	0.36 % ± 0.30 %
	M+2	0.26 % ± 0.22 %	0.59 % ± 0.12 %	0.27 % ± 0.19 %
	M+3	0.00 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.15 % ± 0.13 %	0.46 % ± 0.16 %	0.18 % ± 0.05 %
	M+5	0.04 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.04 %
Ser	M+0	32.82 % ± 0.36 %	33.05 % ± 0.20 %	28.21 % ± 0.31 %
	M+1	63.65 % ± 0.49 %	63.68 % ± 0.29 %	68.11 % ± 0.36 %
	M+2	2.79 % ± 0.18 %	2.63 % ± 0.15 %	2.91 % ± 0.03 %
	M+3	0.73 % ± 0.05 %	0.63 % ± 0.06 %	0.77 % ± 0.12 %
Thr	M+0	44.36 % ± 0.33 %	52.52 % ± 0.08 %	50.32 % ± 0.54 %
	M+1	3.31 % ± 0.18 %	3.56 % ± 0.06 %	3.63 % ± 0.14 %
	M+2	1.57 % ± 0.30 %	1.80 % ± 0.18 %	1.76 % ± 0.04 %
	M+3	47.50 % ± 0.50 %	39.53 % ± 0.20 %	41.96 % ± 0.38 %
	M+4	3.27 % ± 0.14 %	2.60 % ± 0.05 %	2.32 % ± 0.06 %
Tyr	M+0	97.74 % ± 0.81 %	98.51 % ± 0.36 %	97.70 % ± 0.74 %
	M+1	0.20 % ± 0.35 %	0.32 % ± 0.31 %	0.29 % ± 0.51 %
	M+2	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.04 %	0.09 % ± 0.15 %
	M+3	0.14 % ± 0.12 %	0.01 % ± 0.02 %	0.41 % ± 0.26 %
	M+4	0.02 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.12 % ± 0.20 %
	M+5	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.05 %	0.47 % ± 0.33 %
	M+6	0.22 % ± 0.19 %	0.08 % ± 0.07 %	0.14 % ± 0.16 %
	M+7	0.16 % ± 0.15 %	0.15 % ± 0.16 %	0.05 % ± 0.08 %
	M+8	0.23 % ± 0.24 %	0.06 % ± 0.08 %	0.15 % ± 0.21 %
	M+9	1.28 % ± 0.40 %	0.82 % ± 0.05 %	0.58 % ± 0.09 %
Val	M+0	99.51 % ± 0.25 %	99.19 % ± 0.09 %	99.20 % ± 0.22 %
	M+1	0.27 % ± 0.24 %	0.42 % ± 0.08 %	0.43 % ± 0.17 %
	M+2	0.15 % ± 0.03 %	0.20 % ± 0.03 %	0.21 % ± 0.07 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.06 % ± 0.02 %	0.18 % ± 0.04 %	0.16 % ± 0.03 %
	M+5	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %

Table S7.  $^{13}\text{C}$ -excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{codY}$  cultivated in CDM with 55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]glucose. M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of  $^{13}\text{C}$ -atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{codY}$		
		55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]Glc		
		CDM 1	CDM 2	CDM 3
Ala	M+0	19.46 % $\pm$ 0.05 %	17.81 % $\pm$ 0.06 %	17.53 % $\pm$ 0.06 %
	M+1	0.66 % $\pm$ 0.01 %	1.09 % $\pm$ 0.02 %	0.46 % $\pm$ 0.04 %
	M+2	2.54 % $\pm$ 0.01 %	2.60 % $\pm$ 0.01 %	2.59 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	77.35 % $\pm$ 0.06 %	78.49 % $\pm$ 0.08 %	79.43 % $\pm$ 0.13 %
Asp	M+0	58.78 % $\pm$ 0.67 %	52.24 % $\pm$ 1.64 %	50.76 % $\pm$ 0.48 %
	M+1	0.18 % $\pm$ 0.18 %	1.99 % $\pm$ 0.32 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	1.23 % $\pm$ 0.04 %	0.98 % $\pm$ 0.75 %	1.55 % $\pm$ 0.08 %
	M+3	39.38 % $\pm$ 0.53 %	43.46 % $\pm$ 1.32 %	47.21 % $\pm$ 0.47 %
	M+4	0.42 % $\pm$ 0.13 %	1.32 % $\pm$ 0.75 %	0.49 % $\pm$ 0.27 %
Glu	M+0	99.76 % $\pm$ 0.20 %	94.84 % $\pm$ 0.40 %	99.96 % $\pm$ 0.04 %
	M+1	0.13 % $\pm$ 0.14 %	5.15 % $\pm$ 0.40 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.09 % $\pm$ 0.11 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.03 % $\pm$ 0.05 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Gly	M+0	78.69 % $\pm$ 1.87 %	97.63 % $\pm$ 0.03 %	99.54 % $\pm$ 0.19 %
	M+1	0.66 % $\pm$ 0.06 %	2.04 % $\pm$ 0.05 %	0.06 % $\pm$ 0.07 %
	M+2	20.65 % $\pm$ 1.81 %	0.33 % $\pm$ 0.02 %	0.40 % $\pm$ 0.12 %
Ile	M+0	99.79 % $\pm$ 0.03 %	94.75 % $\pm$ 0.63 %	99.74 % $\pm$ 0.04 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	4.85 % $\pm$ 0.42 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.32 % $\pm$ 0.20 %	0.13 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	0.01 % $\pm$ 0.03 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.09 % $\pm$ 0.01 %	0.09 % $\pm$ 0.03 %	0.12 % $\pm$ 0.01 %
	M+5	0.09 % $\pm$ 0.02 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Leu	M+0	99.99 % $\pm$ 0.00 %	95.14 % $\pm$ 0.13 %	100.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	4.82 % $\pm$ 0.09 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.03 % $\pm$ 0.04 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.02 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
Phe	M+0	98.89 % $\pm$ 0.11 %	89.65 % $\pm$ 0.58 %	97.33 % $\pm$ 0.26 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	7.32 % $\pm$ 0.73 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.08 % $\pm$ 0.15 %	0.63 % $\pm$ 0.04 %	0.37 % $\pm$ 0.20 %
	M+3	0.07 % $\pm$ 0.11 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %
	M+4	0.03 % $\pm$ 0.03 %	0.02 % $\pm$ 0.02 %	0.03 % $\pm$ 0.05 %
	M+5	0.11 % $\pm$ 0.03 %	0.11 % $\pm$ 0.02 %	0.10 % $\pm$ 0.01 %
	M+6	0.04 % $\pm$ 0.08 %	0.17 % $\pm$ 0.02 %	0.11 % $\pm$ 0.02 %
	M+7	0.09 % $\pm$ 0.11 %	0.11 % $\pm$ 0.02 %	0.11 % $\pm$ 0.03 %
	M+8	0.02 % $\pm$ 0.04 %	0.16 % $\pm$ 0.03 %	0.15 % $\pm$ 0.04 %
M+9	0.67 % $\pm$ 0.21 %	1.81 % $\pm$ 0.12 %	1.79 % $\pm$ 0.11 %	

Pro	M+0	99.50 % ± 0.33 %	93.81 % ± 0.19 %	99.02 % ± 0.46 %
	M+1	0.09 % ± 0.08 %	5.00 % ± 0.15 %	0.10 % ± 0.17 %
	M+2	0.18 % ± 0.21 %	0.72 % ± 0.17 %	0.63 % ± 0.22 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.06 %	0.10 % ± 0.03 %
	M+4	0.22 % ± 0.11 %	0.39 % ± 0.02 %	0.13 % ± 0.12 %
	M+5	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.06 %	0.03 % ± 0.05 %
Ser	M+0	35.63 % ± 0.20 %	27.57 % ± 0.19 %	23.92 % ± 0.38 %
	M+1	60.79 % ± 0.52 %	67.96 % ± 0.19 %	72.83 % ± 0.86 %
	M+2	2.77 % ± 0.25 %	3.63 % ± 0.06 %	2.48 % ± 0.24 %
	M+3	0.81 % ± 0.13 %	0.84 % ± 0.04 %	0.77 % ± 0.35 %
Thr	M+0	34.64 % ± 0.34 %	37.17 % ± 0.39 %	33.25 % ± 0.38 %
	M+1	2.41 % ± 0.24 %	3.54 % ± 0.09 %	2.06 % ± 0.73 %
	M+2	2.48 % ± 0.13 %	2.81 % ± 0.14 %	2.95 % ± 0.22 %
	M+3	57.47 % ± 0.21 %	52.87 % ± 0.08 %	58.77 % ± 1.64 %
	M+4	3.00 % ± 0.13 %	3.61 % ± 0.26 %	2.98 % ± 0.59 %
Tyr	M+0	98.41 % ± 0.63 %	89.70 % ± 1.12 %	97.31 % ± 1.18 %
	M+1	0.12 % ± 0.11 %	9.15 % ± 0.75 %	1.10 % ± 1.02 %
	M+2	0.31 % ± 0.42 %	0.21 % ± 0.37 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.20 % ± 0.23 %	0.03 % ± 0.05 %	0.11 % ± 0.14 %
	M+4	0.20 % ± 0.20 %	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.06 %
	M+5	0.11 % ± 0.17 %	0.00 % ± 0.00 %	0.20 % ± 0.18 %
	M+6	0.03 % ± 0.04 %	0.07 % ± 0.05 %	0.03 % ± 0.05 %
	M+7	0.14 % ± 0.14 %	0.06 % ± 0.02 %	0.14 % ± 0.13 %
	M+8	0.03 % ± 0.05 %	0.04 % ± 0.02 %	0.00 % ± 0.00 %
M+9	0.45 % ± 0.15 %	0.74 % ± 0.11 %	1.08 % ± 0.22 %	
Val	M+0	98.90 % ± 0.06 %	93.82 % ± 0.12 %	99.37 % ± 0.11 %
	M+1	0.64 % ± 0.06 %	5.54 % ± 0.12 %	0.26 % ± 0.03 %
	M+2	0.26 % ± 0.05 %	0.32 % ± 0.08 %	0.07 % ± 0.06 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.01 % ± 0.01 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.17 % ± 0.04 %	0.18 % ± 0.02 %	0.21 % ± 0.09 %
	M+5	0.03 % ± 0.01 %	0.14 % ± 0.00 %	0.09 % ± 0.04 %

Table S8.  $^{13}\text{C}$ -excess (mol%) of amino acids in experiments with *S. pneumoniae* D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{zwf}$  cultivated in CDM with 55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]glucose. M represents the mass of the unlabeled amino acid under study. The number behind the mass represents the number of  $^{13}\text{C}$ -atoms. The data are mean values of three measurements.

		<i>Streptococcus pneumoniae</i> D39 $\Delta\text{cps}\Delta\text{zwf}$		
		55.5 mM [ $\text{U-}^{13}\text{C}_6$ ]Glc		
		CDM 1	CDM 2	CDM 3
Ala	M+0	16.11 % $\pm$ 0.03 %	16.51 % $\pm$ 0.10 %	16.85 % $\pm$ 0.07 %
	M+1	0.87 % $\pm$ 0.04 %	0.94 % $\pm$ 0.01 %	1.02 % $\pm$ 0.01 %
	M+2	2.71 % $\pm$ 0.03 %	2.75 % $\pm$ 0.03 %	2.80 % $\pm$ 0.01 %
	M+3	80.31 % $\pm$ 0.03 %	79.80 % $\pm$ 0.12 %	79.34 % $\pm$ 0.07 %
Asp	M+0	63.89 % $\pm$ 0.23 %	62.75 % $\pm$ 0.09 %	62.46 % $\pm$ 0.44 %
	M+1	0.06 % $\pm$ 0.06 %	0.08 % $\pm$ 0.14 %	0.18 % $\pm$ 0.16 %
	M+2	0.88 % $\pm$ 0.06 %	0.83 % $\pm$ 0.18 %	0.96 % $\pm$ 0.04 %
	M+3	35.10 % $\pm$ 0.42 %	36.33 % $\pm$ 0.13 %	36.32 % $\pm$ 0.26 %
	M+4	0.07 % $\pm$ 0.12 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.08 % $\pm$ 0.04 %
Glu	M+0	99.80 % $\pm$ 0.21 %	99.90 % $\pm$ 0.04 %	99.95 % $\pm$ 0.03 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.16 % $\pm$ 0.22 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.02 % $\pm$ 0.03 %	0.02 % $\pm$ 0.04 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.08 % $\pm$ 0.02 %	0.03 % $\pm$ 0.01 %
Gly	M+0	99.27 % $\pm$ 0.02 %	98.97 % $\pm$ 0.05 %	97.43 % $\pm$ 0.11 %
	M+1	0.05 % $\pm$ 0.06 %	0.15 % $\pm$ 0.04 %	0.73 % $\pm$ 0.06 %
	M+2	0.68 % $\pm$ 0.07 %	0.89 % $\pm$ 0.02 %	1.84 % $\pm$ 0.08 %
Ile	M+0	99.79 % $\pm$ 0.03 %	99.73 % $\pm$ 0.02 %	99.76 % $\pm$ 0.02 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.19 % $\pm$ 0.03 %	0.24 % $\pm$ 0.03 %	0.22 % $\pm$ 0.01 %
	M+3	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
	M+4	0.01 % $\pm$ 0.00 %	0.02 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
Leu	M+0	99.95 % $\pm$ 0.02 %	99.98 % $\pm$ 0.01 %	99.96 % $\pm$ 0.03 %
	M+1	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+2	0.05 % $\pm$ 0.02 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.04 % $\pm$ 0.03 %
	M+3	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+4	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+5	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.01 % $\pm$ 0.01 %
Phe	M+0	93.41 % $\pm$ 0.11 %	90.76 % $\pm$ 0.86 %	91.48 % $\pm$ 0.46 %
	M+1	0.55 % $\pm$ 0.27 %	1.13 % $\pm$ 0.81 %	0.94 % $\pm$ 0.37 %
	M+2	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %	0.00 % $\pm$ 0.00 %
	M+3	0.03 % $\pm$ 0.04 %	0.07 % $\pm$ 0.12 %	0.10 % $\pm$ 0.09 %
	M+4	0.17 % $\pm$ 0.05 %	0.23 % $\pm$ 0.11 %	0.28 % $\pm$ 0.11 %
	M+5	0.36 % $\pm$ 0.07 %	0.49 % $\pm$ 0.03 %	0.06 % $\pm$ 0.05 %
	M+6	0.31 % $\pm$ 0.03 %	0.46 % $\pm$ 0.09 %	0.45 % $\pm$ 0.15 %
	M+7	0.39 % $\pm$ 0.04 %	0.71 % $\pm$ 0.21 %	0.61 % $\pm$ 0.09 %
	M+8	0.37 % $\pm$ 0.03 %	0.41 % $\pm$ 0.03 %	0.45 % $\pm$ 0.09 %
M+9	4.42 % $\pm$ 0.08 %	5.74 % $\pm$ 0.22 %	5.64 % $\pm$ 0.19 %	

Pro	M+0	100.00 % ± 0.00 %	99.78 % ± 0.38 %	100.00 % ± 0.00 %
	M+1	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.18 % ± 0.31 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.07 %	0.00 % ± 0.00 %
Ser	M+0	25.49 % ± 0.14 %	24.99 % ± 0.57 %	25.25 % ± 0.21 %
	M+1	73.72 % ± 0.05 %	74.18 % ± 0.69 %	74.03 % ± 0.31 %
	M+2	0.29 % ± 0.18 %	0.81 % ± 0.49 %	0.53 % ± 0.06 %
	M+3	0.50 % ± 0.05 %	0.03 % ± 0.05 %	0.20 % ± 0.09 %
Thr	M+0	40.36 % ± 0.82 %	39.12 % ± 0.86 %	39.54 % ± 0.54 %
	M+1	1.56 % ± 1.00 %	1.89 % ± 1.29 %	1.78 % ± 0.68 %
	M+2	2.30 % ± 0.41 %	1.23 % ± 0.69 %	2.02 % ± 0.31 %
	M+3	55.78 % ± 0.58 %	57.63 % ± 0.36 %	56.33 % ± 0.51 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.14 % ± 0.15 %	0.34 % ± 0.32 %
Tyr	M+0	98.28 % ± 0.17 %	97.32 % ± 0.25 %	98.04 % ± 0.17 %
	M+1	0.00 % ± 0.00 %	0.20 % ± 0.35 %	0.03 % ± 0.05 %
	M+2	0.11 % ± 0.11 %	0.13 % ± 0.22 %	0.04 % ± 0.06 %
	M+3	0.00 % ± 0.00 %	0.16 % ± 0.28 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.03 % ± 0.05 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+5	0.20 % ± 0.06 %	0.28 % ± 0.25 %	0.21 % ± 0.15 %
	M+6	0.07 % ± 0.03 %	0.16 % ± 0.17 %	0.14 % ± 0.18 %
	M+7	0.07 % ± 0.12 %	0.00 % ± 0.00 %	0.04 % ± 0.04 %
	M+8	0.05 % ± 0.06 %	0.17 % ± 0.08 %	0.15 % ± 0.13 %
Val	M+0	99.13 % ± 0.14 %	99.72 % ± 0.07 %	99.63 % ± 0.05 %
	M+1	0.52 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+2	0.15 % ± 0.08 %	0.00 % ± 0.00 %	0.00 % ± 0.00 %
	M+3	0.01 % ± 0.01 %	0.03 % ± 0.05 %	0.06 % ± 0.01 %
	M+4	0.00 % ± 0.00 %	0.02 % ± 0.03 %	0.06 % ± 0.05 %
	M+5	0.19 % ± 0.02 %	0.23 % ± 0.03 %	0.25 % ± 0.03 %